Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON **W. RUHLAND** UND **H. WINKLER**

UNTER MITWIRKUNG VON
J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK,
R. HARDER-GÖTTINGEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

L. BRAUNER
MÜNCHEN

E. BÜNNING
TÜBINGEN

57. BAND, 2. HEFT

MIT 73 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 5. SEPTEMBER 1961)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1961

Planta (Berl.)

Preis DM 26.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E.) Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland*, *L. Brauner* und *E. Bünning*

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Die eingereichten Arbeiten sollen 2 Druckbogen (à 16 Druckseiten) in der Regel nicht überschreiten.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e.V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität,

oder an

Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.

Springer-Verlag

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 83 03 01, Fernschreibnummer 01-83 319
Heidelberg 1, Postfach 3027, Fernsprecher 27901, Fernschreibnummer 04-61 723

57. Band — **Inhaltsverzeichnis** — 2. Heft

Seite

DIEMER, R., Untersuchungen des phototropischen Induktionsvorganges an *Helianthus*-Keimlingen. Mit 17 Textabbildungen 111

BODE, H. R., Über den Einfluß der Ascorbinsäure auf das Welken abgeschnittener Tomatenpflanzen. Mit 9 Textabbildungen 138

SCHNEPF, E., Über Veränderungen der plasmatischen Feinstrukturen während des Welkens. Mit 17 Textabbildungen 156

SPARMANN, G., Biochemische Untersuchungen über Vernalisation und Blütenbildung der Gerste. II. Mitteilung. Mit 15 Textabbildungen 176

RICHTER, G., Die Auswirkungen von Mangan-Mangel auf Wachstum und Photosynthese bei der Blaualge *Anacystis nidulans*. Mit 6 Textabbildungen 202

BAYER, M., Untersuchungen über die Wuchs- und Hemmstoffe der Wurzelspitze und der Plumula von *Vicia faba*. Mit 8 Textabbildungen 215

SCHÖTZ, F., und F. SENSER, Reversible Plastidenumwandlung bei der Mutante „Weißherz" von *Oenothera suaveolens* DESF. Kurze Mitteilung. Mit 1 Textabbildung . . . 235

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta 57, 111—137 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität München

UNTERSUCHUNGEN DES PHOTOTROPISCHEN INDUKTIONSVORGANGES AN *HELIANTHUS*-KEIMLINGEN

Von

ROSEMARIE DIEMER

Mit 17 Textabbildungen

(Eingegangen am 15. April 1961)

A. Einleitung

Nach der Entdeckung der Wuchsstoffe ergab sich bald das Problem, wie die in einseitig belichteten Organen von WENT (1929) gefundene Asymmetrie des Wuchsstoffgehaltes zustande kommt. Zur Deutung wurden im Laufe der Zeit folgende Hypothesen vorgeschlagen:

1. Eine photische Zerstörung des Wuchsstoffes (PAÀL 1918, BURKHOLDER u. JOHNSTON 1937, REINERT 1953, BÜNNING u. REISENER 1956). Diese Inaktivierungstheorie wird unter anderem durch die Versuche von GALSTON (1949) u. BRAUNER (1953) gestützt, die in vitro bei Anwesenheit von Riboflavin eine Zerstörung der β-IES durch Licht feststellen konnten.

2. Eine asymmetrische Wuchsstoffneubildung [OPPENOORTH (1941)], bzw. eine Umwandlung gebundener Auxine in ihre freie, aktive Form (VAN OVERBEEK, DE VASQUEZ and GORDON 1946, THIMANN 1949, AUDUS u. BROWNBRIDGE 1957).

3. Eine Ablenkung der im ganzen unverändert bleibenden Wuchsstoffzufuhr. Hierfür sprechen vor allem die Ergebnisse von BOYSEN-JENSEN (1928), WENT (1929), DU BUY (1933) und von BRIGGS u. Mitarb. (1957). Gegen das Vorkommen eines solchen Wuchsstoffquertransportes beim Phototropismus sprechen hingegen neuere Untersuchungen der Wuchsstoffverteilung mit radioaktiver β-IES 2 C^{14} (vgl. GORDON u. EIB 1956, BÜNNING u. REISENER 1956, REISENER 1958).

Bei kritischer Betrachtung erweisen sich jedoch diese an und für sich überzeugenden Versuche als nicht ganz zuverlässig: Da man bei der Messung nur das markierte C-Atom erfaßt, nicht aber das gesamte Molekül, läßt sich über die wirkliche Konzentration des Wuchsstoffes in den beiden Organhälften nur wenig aussagen, da mit der Möglichkeit eines Zerfalls der sehr labilen radioaktiven Verbindung gerechnet werden muß.

4. Eine physiologische Polarisation des gereizten Organs. Diese Annahme erscheint bereits durch ältere Angaben in der Literatur gerechtfertigt: WALLER (1903), BOSE (1907) und BRAUNER (1927) zeigten, daß bei einseitiger Belichtung die der ehemaligen Lichtquelle zugekehrte

Seite elektronegativ wird. Es liegt wohl nahe, daß diese physikalische Polarisation auch eine physiologische Asymmetrie der beiden Flanken zum Ausdruck bringt.

Gleichzeitig erhebt sich hiermit aber die Frage, ob diese primäre Polarisation an die Gegenwart von Auxin gebunden ist, oder ob im Organ zunächst ein vorbereitender, determinierender Prozeß stattfindet, der dann auch symmetrisch zuströmendes Auxin asymmetrisch wirken läßt. Für diese letztgenannte Möglichkeit sprechen schon ältere Versuche von BRAUNER aus dem Jahre 1922, in denen dekapitierte *Avena*-Keimlinge, denen *nach* der tropistischen Reizung im Dunkeln eine ungereizte Koleoptilspitze aufgesetzt wurde, merkliche Nachkrümmungen im Sinn der vorherigen Belichtung ausführten. Diese Versuche ließen, noch ohne Kenntnis der genaueren Natur der Wuchsstoffe, den Schluß zu, daß durch den Lichtreiz eine Polarisation im Gewebe hervorgerufen wird, die bei nachfolgender gleichmäßiger Zufuhr von Wuchsstoff dessen Wirkung asymmetrisch werden läßt. Hieraus ergibt sich ein neuer Aspekt: Läßt sich dieser Gesamtvorgang zeitlich in seine möglicherweise wuchsstoffunabhängige Induktion und in die wuchsstoffbedürftige Krümmungsreaktion trennen?

Eine solche Möglichkeit deutet bereits BOTJES (1938) für den Geotropismus an, der durch Verdunklung den Wuchsstoffgehalt junger Tomatensprosse soweit senken konnte, daß diese selbst in 24stündiger Dauerhorizontalstellung keine Aufkrümmung mehr zeigten. Bei Aufstellen in die Vertikallage zeigten die Pflanzen erst dann geotropische Nachkrümmungen im Sinne der vorherigen Exposition, wenn sie allseitig mit Auxinpaste versehen worden waren. Genauere Versuche über die Trennbarkeit der beiden Reaktionsschritte beim Geotropismus finden sich in der Arbeit von BRAUNER u. HAGER (1958). Die beiden Autoren fanden, daß geotropisch induzierte, wuchsstoffverarmte Pflanzen den perzipierten Reiz auch in vertikaler Lage bis zu 12 Std „im Gedächtnis behalten" können und dann nach Wuchsstoffzufuhr noch mit einer Krümmung im Sinne der vorherigen Horizontalstellung reagieren.

Sehr interessant ist, daß auch bei einem anderen Tropismus, dem Elektrotropismus diese Trennung der beiden Phasen möglich ist (WEBSTER u. SCHRANK 1953).

Diese Übersicht macht es bereits wahrscheinlich, daß auch beim Phototropismus entsprechende Verhältnisse vorliegen dürften, wenn auch die erwähnte frühzeitige Mitbeteiligung einer photischen IES-Zerstörung zunächst dagegen zu sprechen scheint.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, das Problem einer näheren Untersuchung zu unterziehen, welche Rolle dem Auxin beim Phototropismus zukommt: Ob es schon an der Induktion der Reizkette

beteiligt ist, oder ob es wie beim Geotropismus erst in der zweiten Phase, bei der Auslösung der Krümmungsreaktion in Funktion tritt. Es erschien schon deshalb wichtig, die Situation neuerlich zu überprüfen, da Versuche von De Wit (1957) vorliegen, die gegen die Möglichkeit einer geotropischen Induktion beim Fehlen von Wuchsstoffen sprechen.

Die alte Beobachtung Brauners vom Jahre 1922 bildet die Grundlage und den Ausgangspunkt für die Versuche der folgenden Arbeit. Dabei war es nun wesentlich, ein Objekt zu wählen, bei dem keine Wuchsstoff-Regeneration auftritt, da nur in diesem Fall eine genaue Trennung der wuchsstoffunabhängigen von der wuchsstoffbedürftigen Phase möglich ist. Es empfahl sich daher, die Versuche mit *Helianthus*-Keimlingen durchzuführen, die sich bereits bei entsprechenden geotropischen Versuchen bewährt hatten, da bei ihnen nach der Dekapitation der Wuchsstoffspiegel irreversibel absinkt. Als die Hauptergebnisse dieser Studie bereits vorlagen, erschien eine Arbeit von Guttenberg (1959), in welcher er, ausgehend von der alten Beobachtung Brauners vom Jahre 1922 und den geotropischen Versuchen von Brauner u. Hager (1958), eine Übereinstimmung des Photo- und des Geotropismus hinsichtlich des Primäreffektes an *Avena*-Keimlingen feststellen konnte.

Zu den Ergebnissen dieser Arbeit wird in den folgenden Abschnitten noch näher Stellung genommen werden.

B. Material und Methoden

1. Anzucht des Versuchsmaterials

a) Als Versuchsmaterial dienten Keimlinge von *Helianthus annuus* (Handelsbezeichnung: v. Boguslawskys Frühe), welche auf folgende Art angezogen wurden: Nach Gleichartigkeit ausgesuchte Samen wurden in Petrischalen auf feuchtem Filtrierpapier ausgelegt und 24 Std bei 27° C im Thermostaten angekeimt. Nach diesem Zeitraum hatten ihre Wurzeln eine Länge von etwa 2 mm. Sie wurden nun in kleine, mit gesiebter Gartenerde gefüllte Präparatengläschen (45 mm/20 mm ∅) eingepflanzt und in Lichtkammern eingebracht, in denen sie unter konstantem Licht-Dunkelwechsel von 14/10 Std bei etwa 70% Luftfeuchtigkeit und annähernd konstanter Temperatur von 18—20° C aufwuchsen.

Zu den Versuchen wurden 5—6 Tage alte, möglichst gleichmäßig gewachsene Pflanzen von einer durchschnittlichen Länge von 4—5 cm verwendet.

Die Versuche wurden in einer Dunkelkammer bei einer Durchschnittstemperatur von 22° C ausgeführt.

Um vorher perzipierte Lichtreize abklingen zu lassen, wurden die Pflanzen bereits die Nacht vor dem Versuchsbeginn in den Dunkelraum gestellt.

b) Als Material für die Wuchsstofftestversuche wurde die Hafersorte „Flämings-Gold" von der Saatzuchtanstalt Weihenstephan verwendet. Der Hafer wurde im Dunkeln in feuchtem Sägemehl bei einer Temperatur von 24° C und hoher Luftfeuchtigkeit herangezogen. Um das Auswachsen des Mesokotyls zu unterdrücken, wurden die gut angekeimten *Avena*-Körner 3 Std lang mit Rotlicht bestrahlt (Bentley 1950). Nach etwa 4 Tagen hatten die Keimlinge eine Länge von 20—25 mm erreicht und konnten für den Koleoptilzylindertest (vgl. Bentley 1950) verwendet werden.

2. Wuchsstoffverarmung

Für die Versuche, für welche ± wuchsstoffverarmte *Helianthus*-Hypokotyle erforderlich waren, wurden die Keimlinge dicht unterhalb der Basis der Kotyledonen dekapitiert. Die Kotyledonarebene wurde am Glasrand markiert. Die Pflanzen wurden nun verschieden lange im Dunkelraum bei 22° C und 90% relativer Luftfeuchtigkeit belassen.

3. Zufuhr von Wuchsstofflösungen

Zur Prüfung der Wirkung der Wuchsstoffe wurden den dekapitierten Hypokotylen mittels eines über die apikale Schnittfläche gestülpten konischen Capillarröhrchens die zu untersuchenden Lösungen zugeführt (vgl. BRAUNER u. VARDAR (1950).

4. Versuchsanordnung

Als Lichtquelle für die phototropischen Vorversuche diente eine mattierte 200 W-Osram-Glühbirne. Zur Ausschaltung der Wärmestrahlung war die Lampe in eine mit dest. H_2O gefüllte, runde Glasküvette eingetaucht. Diese wurde mittels einer Kupferspirale, die an die Wasserleitung angeschlossen war, während der Belichtung ausreichend gekühlt.

Die möglichst gerade und gleich groß gewachsenen Pflanzen wurden in entsprechender Entfernung im Halbkreis um die Lampe gestellt. Die Ermittlung der Lichtintensität am Ort der Pflanzen erfolgte mit einer Langeschen Photozelle. Für die Hauptversuche kamen jedoch zwei 1,20 m lange 40 W-Osram-Leuchtstoffröhren „HNT" zur Verwendung. Zur Ausschaltung der Wärmestrahlung wurde zwischen Röhren und Pflanzen noch eine Glasscheibe eingefügt. Um Störungen durch reflektiertes Licht zu vermeiden, wurde jede Pflanze in eine Nische aus mattem schwarzem Papier gestellt.

Alle technischen Vorbereitungen wurden bei schwachem Rotlicht ausgeführt.

5. Auswertung und Sicherung

Die erzielten Krümmungen wurden als Schattenrißzeichnungen aufgenommen: Die gereizten Keimlinge bzw. Hypokotyle wurden wenige Millimeter vor einem mit Transparentpapier bespanntem Glasschirm angeordnet. Eine orangefarbene 25 W-Glühbirne (schwaches kurzdauerndes Orange-Licht führte zu keiner phototropischen Beeinflussung!) entwarf aus einer Entfernung von 60 cm auf dem Glasschirm ein scharfes Schattenbild der Keimlinge, das dann abgepaust wurde. Das Ausmaß der Krümmung wurde mittels folgender Methode bestimmt: Auf dem Schattenbild wurde durch die Mitte der oberen gekrümmten Hypokotylzone (bzw. Capillarröhre) eine Linie gelegt und ihr Winkel mit einer mitgezeichneten Lotlinie gemessen. Jede Meßreihe umfaßte mindestens 35 Einzelpflanzen.

Die statistische Bewertung der Meßergebnisse erfolgte durch Errechnung des mittleren Fehlers σ des jeweiligen arithmetischen Mittels nach der Formel:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n\,(n-1)}}\,.$$

C. Vorversuche

I. Die phototropische Reaktion intakter Keimlinge auf einseitiges Dauerlicht verschiedener Intensität

Zunächst sollte mit dieser Versuchsreihe die für die Untersuchung der phototropischen Reaktion intakter *Helianthus*-Keimlinge günstigste Intensität ermittelt werden. Die etwa 6 Tage alten Keimlinge wurden

abends dunkelgestellt und tags darauf im Halbkreis so um eine 200 W-Osram-Glühbirne gruppiert, daß das Licht stets senkrecht zu der Medianebene der Kotyledonen auffiel. Durch entsprechende Wahl des Objektabstandes wurde die Belichtungsintensität von 100—3000 Lux variiert. Die Beobachtung erfolgte während einer 4stündigen Belichtungszeit. Zu jeder Serie dienten etwa 30 Einzelpflanzen. Die Versuchstemperatur betrug 19,5° C, die Luftfeuchtigkeit 45%.

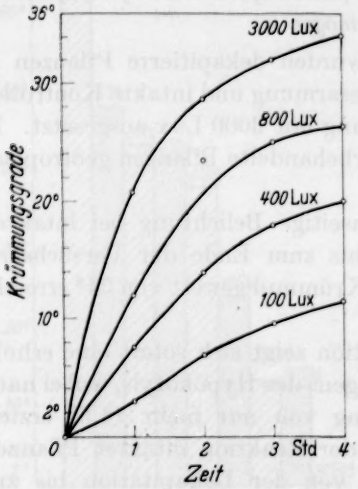


Abb. 1. Zeitlicher Verlauf der phototropischen Krümmung intakter Keimlinge bei den angegebenen Lichtintensitäten (Glühlicht)

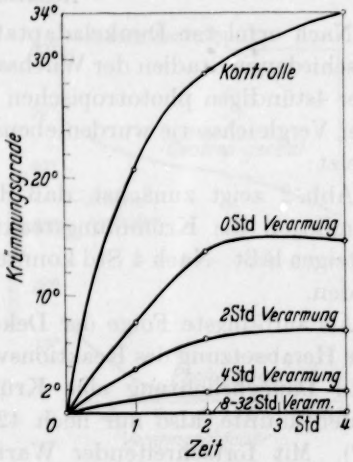


Abb. 2. Abfall des phototropischen Reaktionsvermögens dekapitierter Pflanzen mit zunehmender Verarmungsdauer. Lichtintensität: 3000 Lux Glühlicht

Wie aus den Kurven in Abb. 1 ersichtlich ist, nimmt die Krümmungsstärke im ganzen untersuchten Bereich mit der Lichtintensität zu, allerdings in exponential fallendem Maße. Die Intensität von 3000 Lux, die nach 4 Std bereits eine Krümmung von 34° auslöst, erwies sich für die folgenden Versuche als besonders günstig.

II. Die Reaktionen dekapitierter Keimlinge

1. Die Reaktionsgröße senkrecht bzw. parallel zu der Medianebene der Kotyledonen belichteter Pflanzen

Da die Hauptversuche dieser Arbeit größtenteils mit dekapitierten Pflanzen ausgeführt werden sollten, wurden zunächst die tropistischen Symmetrieverhältnisse des Hypokotyls untersucht: Es wurde geprüft, ob ein Unterschied im Reaktionsausmaß bei Belichtung senkrecht oder parallel zu der Kotyledonarebene auftritt. Um eine etwaige Beschattung durch die Kotyledonen zu vermeiden, wurden für obige Messungen frisch

dekapitierte Keimlinge mit praktisch noch unverändertem Wuchsstoffgehalt verwendet.

Die Krümmungswerte bei einer 3stündigen Bestrahlung mit 3000 Lux lassen erkennen, daß die senkrecht zur Kotyledonarebene belichteten Pflanzen um etwa 15% stärker reagieren als bei Belichtung in der Kotyledonarebene: 15,2° bzw. 13,2° (vgl. auch ZEYBEK 1957).

2. Wirkung der Dekapitation auf das phototropische und geotropische Reaktionsvermögen

Nach erfolgter Dunkeladaptation wurden dekapitierte Pflanzen in verschiedenen Stadien der Wuchsstoffverarmung und intakte Kontrollen einer 4stündigen phototropischen Reizung mit 3000 Lux ausgesetzt. In einer Vergleichsserie wurden ebenso vorbehandelte Pflanzen geotropisch gereizt:

Abb. 2 zeigt zunächst, daß die einseitige Belichtung bei intakten Keimlingen die Krümmungsreaktion bis zum Ende der Versuchszeit ansteigen läßt. Nach 4 Std konnte ein Krümmungswert von 34° erreicht werden.

Als auffälligste Folge der Dekapitation zeigt sich sofort eine erhebliche Herabsetzung des Reaktionsvermögens des Hypokotyls, wobei nach 4 Std Dauerbelichtung eine Krümmung von nur mehr 14,5° erzielt werden konnte, also nur noch 42,6% der Reaktion intakter Pflanzen (34°). Mit fortschreitender Wartezeit von der Dekapitation bis zur Reizung sinkt das Reaktionsvermögen weiterhin beträchtlich ab. Bereits nach 8 Std Verarmungsdauer kann bei 4stündiger Belichtung mit 3000 Lux keine phototropische Reaktion mehr festgestellt werden.

Die Krümmungsgeschwindigkeit der frisch dekapitierten Pflanzen bleibt während der ersten beiden Belichtungsstunden noch relativ konstant. Nach dieser kräftigen Anfangsphase verlangsamt sich aber die Bewegung im Gegensatz zu ihrem Verlauf bei den intakten Pflanzen sehr plötzlich, so daß am Ende der 4. Std der Abfall des Reaktionsvermögens infolge der Dekapitierung schon recht deutlich zum Ausdruck kommt. Im Vergleich zum Phototropismus zeigt sich beim Geotropismus eine ganz andere Situation. Aus Abb. 3 geht zunächst hervor, daß hier die Krümmungsreaktion der intakten Pflanzen stärker ausgeprägt ist als bei der untersuchten Lichtreizung: 4 Std-Wert 62°. Dekapitation bewirkt hier zwar ebenfalls einen Abfall des Reaktionsvermögens, jedoch tritt die hemmende Wirkung des Eingriffes viel später in Erscheinung. Der entsprechende 4 Std-Reaktionswert von frisch dekapitierten Pflanzen beträgt 48°, also immer noch 77,4% der Krümmung intakter Pflanzen.

Weiterhin zeigt das Säulendiagramm, daß die geotropisch gereizten, dekapitierten Pflanzen, im Gegensatz zu phototropisch gereizten während

der ersten 8 Verarmungsstunden ihr Reaktionsvermögen zunächst noch wenig verringern. Erst nach Verarmungszeiten über 8 Std nimmt die Reaktionsstärke drastisch ab. Völlige Inaktivierung tritt jedoch erst nach etwa 4 Tagen ein (vgl. BRAUNER u. HAGER 1958).

Schon A. BEYER (1932) hat darauf hingewiesen, daß *Helianthus*-Keimlinge noch lange nach der Dekapitation zur geotropischen Aufkrümmung fähig sind. Dieselbe Tatsache geht auch aus den Untersuchungen von RUGE (1941/42) hervor.

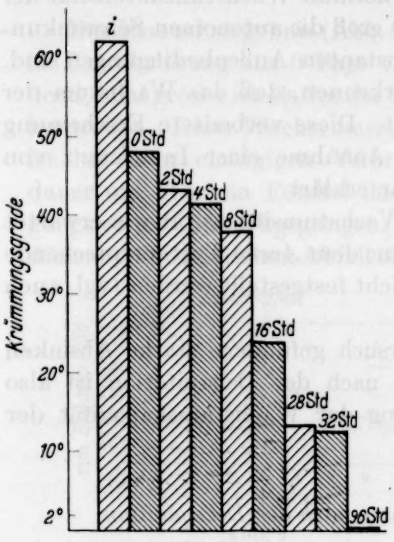


Abb. 3

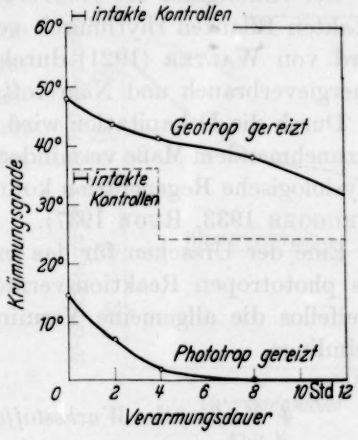


Abb. 4

Abb. 3. Abfall des geotropischen Reaktionsvermögens dekapitierter Pflanzen mit zunehmender Verarmungsdauer (in Stunden). 4 Std-Krümmungswerte. Zahlen über den Säulen: Verarmungsdauer in Stunden. *i* = intakte Kontrollen

Abb. 4. 4 Std-Werte der phototropischen und geotropischen Reaktion dekapitierter Pflanzen als Funktion der Verarmungszeit. Lichtintensität: 3000 Lux Glühlicht

In Abb. 4 sind zum besseren Vergleich die 4 Std-Werte der photo- und geotropischen Reaktion als Funktion der Verarmungszeit dargestellt.

3. Wirkung der Dekapitation auf das Streckungswachstum der Hypokotyle

Zur Beurteilung der verschiedenartigen Abhängigkeit der beiden Tropismen von den Folgen der Dekapitation wurde zunächst deren Einfluß auf das Streckungswachstum von *Helianthus*-Hypokotylen untersucht. Es war zu erwarten, daß eine Dekapitation infolge der Störung der ganzen Wuchsstoffkorrelation des Keimlings — von der anfänglichen Wundwirkung ganz abgesehen (BÜNNING 1927) — einen starken Abfall des Wachstums bedingt (DOLK 1936). Um den Verlauf des Abfalls der tropistischen Reaktionsfähigkeit nach der Dekapitation mit der entsprechenden Rate des Streckungswachstums vergleichen zu

können, wurde der Wachstumsverlauf von Keimlingen im intakten Zustand und nach darauffolgender Dekapitierung im Dunkeln mit Hilfe von Horizontalmikroskopen gemessen (Objektivvergrößerung 2,5×, Ocularvergrößerung 8×). Dazu wurde am Hypokotyl einige Millimeter unterhalb der Basis der Kotyledonen mit einem Gemisch von Paraffinöl und Kohle ein Punkt markiert. Die Ablesungen fanden in einstündigen Intervallen statt. Zunächst wurde die normale Wachstumsintensität der Keimlinge bestimmt, um zu sehen, wie groß die autonomen Schwankungen der Wachstumsintensität bei konstanten Außenbedingungen sind.

Der Anfangsast der Abb. 5 läßt erkennen, daß das Wachstum der intakten Pflanzen rhythmisch verläuft. Diese verbreitete Erscheinung wird von WALTER (1921) durch die Annahme einer Interferenz von Energieverbrauch und Nährstoffzufuhr erklärt.

Durch die Dekapitation wird die Wachstumsintensität wie erwartet in zunehmendem Maße vermindert. Eine dem *Avena*-Typ entsprechende physiologische Regeneration konnte nicht festgestellt werden (vgl. auch STRUGGER 1933, RUGE 1937).

Eine der Ursachen für das im Versuch gefundene starke Absinken des phototropen Reaktionsvermögens nach der Dekapitation ist also zweifellos die allgemeine Verminderung der Wachstumskapazität der Keimlinge.

4. Verlauf der Wuchsstoffabnahme nach der Dekapitation

Wie die Versuche von DIJKMAN (1934), LAIBACH u. MEYER (1935), RUGE (1941/42) und BRAUNER u. HAGER (1958) zeigten, befindet sich der Hauptwuchsstoffvorrat in den Kotyledonen. Nach VAN OVERBEEK (1933) liefert die Plumula etwa 25% der von den Keimblättern abgegebenen Wuchsstoffmenge. Ziel der folgenden Versuche war es, nun festzustellen, in welchem Maße der noch im Hypokotyl vorhandene Wuchsstoffgehalt nach der Dekapitation im Laufe der Zeit abnimmt.

Zu diesem Zweck wurden die Hypokotyle nach verschieden langen Wartezeiten extrahiert und die Extrakte mit dem *Avena*-Koleoptilzylindertest auf ihren Wuchsstoffgehalt geprüft. Für jede Bestimmung dienten etwa 4 g 2 cm lange Hypokotylstücke, die mit etwas Quarzsand und 10 ml abs. Alkohol im Mörser auf dem Eisbad bei 0° zerrieben wurden. Nach 3 Std Extraktion im Eisschrank wurden die Proben abgenutscht und der Rückstand zweimal mit je 10 ml abs. Alkohol nachgewaschen. Der Extrakt wurde sodann im Vakuum bei 40° zur Trockne gebracht und der erhaltene Rückstand mit 10 cm^3 m/60 prim. Kaliumphosphat (p_H 4,8) aufgenommen.

Als Testobjekt für die Wuchsstoffbestimmungen kamen (vgl. S. 113) 20 bis 25 mm lange *Avena*-Koleoptilen zur Verwendung. Sie wurden bei Rotlicht 2 mm unterhalb der Spitze dekapitiert, das Primärblatt wurde herausgezogen. Nach Schneider (1938) und BENTLEY (1950) nimmt das Wachstum der Koleoptilen sowie die Wirkung des zugeführten Wuchsstoffes mit dem Abstand von der Koleoptilspitze ab. Deshalb wurde aus dem obersten Bereich eines jeden Koleoptilstumpfes ein 10 mm langes Stück herausgeschnitten. Da durch Reduktion des Grund-

wachstums der Koleoptilzylinder eine erhöhte Empfindlichkeit des Testes erreicht wird (BENTLEY 1950), wurden die Stücke 3 Std mit einer 1 mg/l $MnSO_4$-Lösung behandelt (NITSCH 1955). Danach wurden je zehn solcher Zylinder in kleine Petrischalen eingelegt, die je 10 cm³ gepufferte Versuchslösung bzw. als Kontrolle die entsprechende reine Phosphatlösung enthielten. Die Koleoptilen wurden nun 20 Std lang in diesen Lösungen auf die Schüttelmaschine gestellt. Nach dieser Zeit konnte der Zuwachs auf einer mit Millimeterpapier beklebten Glasplatte ausgemessen werden.

Das Versuchsergebnis (Abb. 6) zeigt, daß der Zuwachs der Koleoptilen in Extraktlösung aus 0-Tage verarmten Pflanzen einen Wert erreicht, der 2,7mal größer ist als der der Wasserkontrollen. Diese Wachstumszunahme ist bei einer eintägigen Verarmungsdauer um über ein Fünftel ihres Ausgangswertes zurückgegangen. Nach diesem erst drastischen Abfall sinkt der „Wuchsstoffspiegel" während der folgenden Tage erheblich langsamer ab. Die Angabe von LAIBACH u. MEYER (1935), daß der Wuchsstoffgehalt nach der Dekapitation wieder steigen soll, konnte demnach übereinstimmend mit den Befunden von RUGE (1941/42) nicht bestätigt werden.

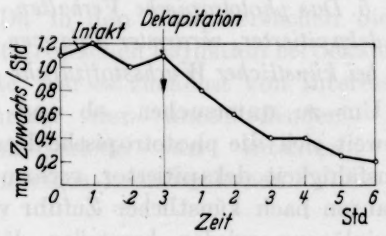


Abb. 5

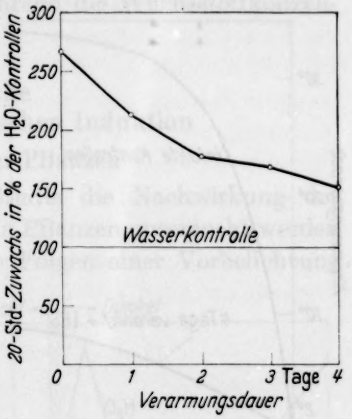


Abb. 6

Abb. 5. Abfall des Längenwachstums nach der Dekapitation

Abb. 6. Wachstumsfördernde Wirkung des Extrakts verschieden lange verarmter *Helianthus*-Keimlinge im *Avena*-Zylindertest. Ordinate: Prozent-Zuwachs der Testzylinder; Abszisse: Verarmungsdauer

Der Verlauf der Wuchsstoffverarmung spricht dafür, daß die verschieden starke Verminderung der Krümmungsreaktion durch die Dekapitation bei geotropischer und bei phototropischer Reizung eine Erklärung darin findet, daß für die phototropische Reaktion eine wesentlich größere Auxinmenge benötigt wird als für den Mechanismus des Geotropismus.

Daß diese Vorstellung eines verschieden großen Wuchsstoffbedarfs bei den beiden Tropismen nicht unberechtigt ist, geht auch aus der Arbeit von BRAUNER u. VARDAR (1950) deutlich hervor, in der die Autoren darauf hinweisen, daß bei der geotropischen Reaktion die verfügbare Gesamt-Wuchsstoffmenge nicht reduziert, sondern nur zum

Teil transversal verlagert wird, und daß hier selbst mit einer Neuproduktion von Auxin oder seiner Umwandlung aus der gebundenen in die freie Form zu rechnen sei. Desgleichen konnte BARA (1957) durch quantitative Untersuchungen direkt nachweisen, daß die zur Erzielung einer jeweils maximalen Reaktion nötige IES-Konzentration bei den beiden Tropismen ungleich groß ist. — Auch ZEYBEK (1957) beobachtete das gleiche Phänomen.

Der Wuchsstoffmangel, der durch Dekapitation verursacht wird, kann jedoch nicht die alleinige Ursache des starken Abfalls des phototropischen Reaktionsvermögens nach der Dekapitation sein, da die phototropische Reaktionsfähigkeit viel schneller abfällt als der Wuchsstoffspiegel (vgl. Abb. 4 und 6).

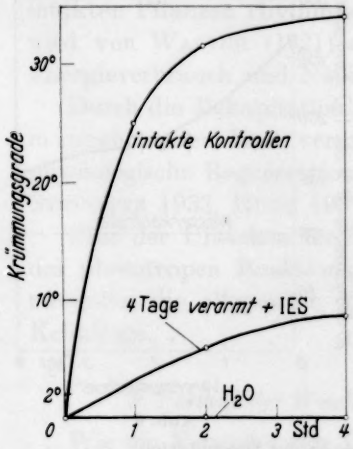


Abb. 7. Verlauf der phototropischen Krümmung intakter Pflanzen sowie von 4 Tage verarmten Hypokotylen im Dauerlicht bei apikaler IES- bzw. H_2O-Zufuhr. Lichtintensität: 5000 Lux Glühlicht

5. Das phototropische Verhalten dekapitierter, verarmter Pflanzen bei künstlicher Wuchsstoffzufuhr

Um zu untersuchen, ob und inwieweit sich die phototropische Reaktionsfähigkeit dekapitierter, verarmter Pflanzen nach künstlicher Zufuhr von Auxinlösung wieder herstellen läßt, wurde 4 Tage verarmten Pflanzen von der apikalen Schnittfläche her (nach deren Erneuerung) durch ein aufgesetztes Capillarröhrchen 10 mg/l IES-Lösung zugeführt. Kontrollpflanzen wurde in gleicher Weise reines H_2O dargeboten. Die so präparierten Hypokotylstümpfe wurden dann mit 5000 Lux einseitig bestrahlt. Wie aus Abb. 7 zu ersehen ist, entwickelt sich nach 4stündiger Belichtungsdauer bei den IES-Proben eine Reaktion von nur 8,8°, während der Effekt bei den intakten Pflanzen 34,0° betrug. Die H_2O-Kontrollen blieben dagegen völlig ungekrümmt.

Aus diesen Ergebnissen geht hervor, daß die phototropische Krümmung zwar von der Gegenwart von Wuchsstoff abhängt, aber keinesfalls von diesem allein limitiert wird.

So könnte mit der Wuchsstoffverarmung im Gewebe auch ein Verlust anderer, möglicherweise die Funktion von Sensibilisatoren ausführenden Stoffe Hand in Hand gegangen sein. Die geringe Menge oder das völlige Fehlen solcher Sensibilisatoren könnte dann für die beobachtete schwache Krümmungsreaktion verantwortlich sein. Die Vermutung, daß es sich dabei um Riboflavin handeln könnte, liegt nahe.

Doch können nach der Ansicht GALSTONs (1958) auch andere blau absorbierende Pigmente, wie Folsäure, Vitamin K und gewisse Flavonoide, als am phototropischen Geschehen beteiligte Receptorpigmente in Frage kommen.

Daß auch ein Mangel an Nährstoffen (der ja bei 4tägiger Verarmung auf alle Fälle auftritt) sich als begrenzender Faktor bei den tropistischen Reaktionen auswirken kann, zeigten AVERY u. LA RUE (1938), die bei Versuchen an *Avena*-Koleoptilen 14 Std nach dem Abschneiden vom Korn ein Absinken der geo- und phototropischen Reaktion auf 20% des Normalwertes feststellen konnten, während die Wuchsstoffkonzentration nur auf 55—65% abnahm.

D. Hauptversuche
Nachwirkung der phototropischen Induktion
I. Das Verhalten intakter Pflanzen

Da in den Hauptversuchen dieser Studie die Nachwirkung der phototropischen Induktion bei dekapitierten Pflanzen untersucht werden sollte, war es zunächst von Interesse, die Folgen einer Vorbelichtung während der anschließenden Dunkelperiode an intakten Keimlingen kennenzulernen.

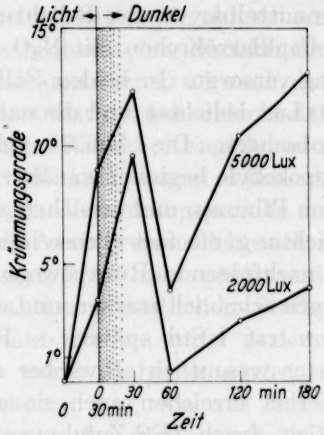


Abb. 8

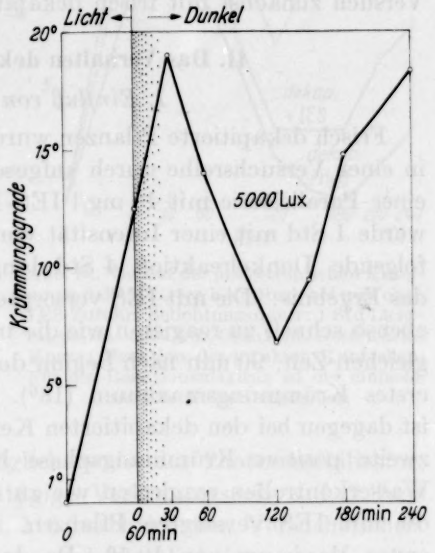


Abb. 9

Abb. 8. Verlauf der phototropischen Krümmung intakter Pflanzen bei 30 min Belichtung. Lichtintensität: 2000 Lux bzw. 5000 Lux Glühlicht

Abb. 9. Verlauf der phototropischen Krümmung intakter Keimlinge bei 1stündiger Belichtung. Lichtintensität: 5000 Lux Glühlicht

In einer ersten Versuchsreihe wurden die Pflanzen relativ kurz, 30 min lang einseitig mit zwei verschiedenen Lichtstärken bestrahlt: 2000 Lux bzw. 5000 Lux. Es zeigte sich, daß die ausgelöste Krümmung

in beiden Fällen erst 30 min nach der Verdunklung ihr Maximum erreicht, 9,6° nach Bestrahlung mit 2000 Lux, 12,3° nach der stärkeren Reizung. Danach gehen die Krümmungen in beiden Fällen stark zurück und erreichen nach weiteren 30 min ein sehr ausgeprägtes Minimum. Es folgt nun ein neuerlicher Anstieg, der bei der 5000 Lux-Reaktion das erste Maximum bereits überschreitet (vgl. Abb. 8).

Es war nun zu prüfen, wie sich die Reaktionskurve bei längerer Belichtungszeit verändert. Untersucht wurde nur die höhere Lichtintensität 5000 Lux.

Abb. 9 zeigt, daß auch bei einstündiger Belichtung die Krümmung ihr Maximum 30 min nach dem Löschen der Lampe erreicht. Es liegt bei 19°, also um 6,7° höher als nach 30 min Belichtungszeit. Bei noch längerer Reizung mit dieser Lichtintensität ($1^1/_2$ Std) verschiebt sich das Maximum nicht weiter, es liegt jetzt am Ende der Lichtperiode. Die Pflanzen beginnen sich also in der anschließenden Dunkelperiode sofort zurückzukrümmen.

Da das Hauptproblem dieser Arbeit nur an dekapitierten Keimlingen entschieden werden konnte, wurde der oben geschilderte 1 Std-Versuch zunächst mit frisch dekapitierten Pflanzen wiederholt.

II. Das Verhalten dekapitierter Keimlinge

1. Einfluß von Auxinzufuhr

Frisch dekapitierte Pflanzen wurden unmittelbar vor der Belichtung in einer Versuchsreihe durch aufgesetzte Capillarröhrchen mit H_2O, in einer Parallelserie mit 10 mg/l IES-Lösung versorgt. In beiden Fällen wurde 1 Std mit einer Intensität von 5000 Lux belichtet und die nachfolgende Dunkelreaktion 4 Std lang beobachtet. Die Abb. 10 zeigt das Ergebnis: Die mit IES versorgten Hypokotyle beginnen annähernd ebenso schnell zu reagieren wie die intakten Pflanzen und erreichen zur gleichen Zeit, 90 min nach Beginn der Belichtung, ein fast ebenso hohes erstes Krümmungsmaximum (18°). Die nachfolgende Rückbewegung ist dagegen bei den dekapitierten Keimlingen erheblich stärker, und die zweite positive Krümmungsphase beginnt erst 1 Std später. — Die Wasserkontrollen reagierten wie zu erwarten wesentlich schwächer als die mit IES versorgten Pflanzen. Immerhin erreichen auch sie ein erstes Maximum von 10,5°. Da das Defizit durch IES-Zufuhr weitgehend ausgeglichen werden kann, ist die schwächere Reaktion der frisch dekapitierten Pflanzen wohl in erster Linie auf das Fehlen der Auxinquelle zurückzuführen.

2. Versuche zur Trennung der phototropischen Induktion von der Krümmungsreaktion

a) Der Grundversuch. In den nun folgenden Experimenten sollte — im Anschluß an die geotropischen Versuche von BRAUNER u. HAGER

(1958) — ein Versuch unternommen werden, den Perzeptionsvorgang von der induzierten Bewegungsreaktion zeitlich zu trennen. Dabei war das Hauptproblem wieder, ob für die Perzeption des phototropischen „Reizes" die Gegenwart von Auxin notwendig ist. Daraus ergab sich das folgende Versuchsprinzip: Es mußten zunächst geeignete Belichtungsbedingungen gefunden werden, die in möglichst wuchsstofffreien Hypokotylen keine phototropische Krümmung mehr auslösen. Dann war zu prüfen, ob derart vorbelichtete Pflanzen in der nachfolgenden Dunkelperiode durch symmetrische Wuchsstoffzufuhr zu Krümmungen im Sinne der vorherigen Lichtreizung veranlaßt werden können.

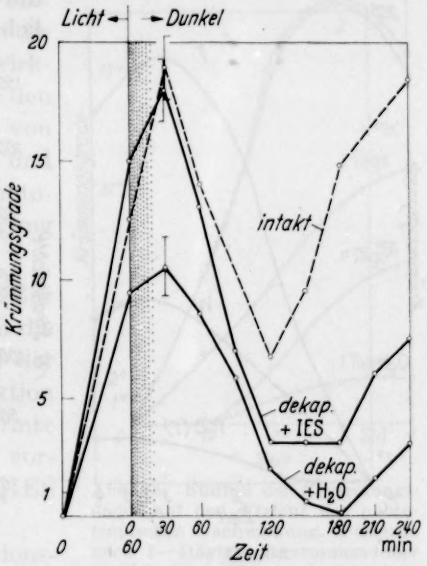


Abb. 10. Verlauf der phototropischen Krümmung dekapitierter Keimlinge bei und ohne IES-Zufuhr. Belichtungsdauer: 1 Std Lichtintensität: 5000 Lux Glühlicht. Gestrichelte Kurve: Reaktion der intakten Kontrollen. Für die Reaktionsmaxima ist der einfache mittlere Fehler angegeben

Für die ersten Versuche dieser Art wurden in Anlehnung an die Erfahrungen von Brauner u. Hager 4 Tage verarmte Hypokotyle verwendet und zur Reizinduktion wie in den Vorversuchen 5000 Lux Glühlichtbestrahlung von mehreren Stunden Dauer. Unter diesen Bedingungen wurden zwar bereits positive Ergebnisse erzielt. Die beobachteten Nachkrümmungen waren aber so schwach, daß sie sich statistisch nur schlecht sichern ließen. Wie schon angedeutet (vgl. S. 120—121), waren während der langen Verarmungsperiode neben dem Auxin vermutlich auch noch andere, für die phototropische Reaktion wesentlichen Stoffe abgebaut worden, unter anderem möglicherweise der Photosensibilisator. Es wurde daher zunächst die 4tägige Verarmungszeit auf 2 Tage verkürzt, was, wie aus den auf S. 116 beschriebenen Versuchen hervorgeht, bei phototropischer Reizung unbedenklich ist.

Ferner erwies es sich auch als günstig, die Belichtung statt mit der bisher verwendeten 200 W-Glühlampe mit Leuchtstoffröhren vorzunehmen. Das Wirkungsspektrum ihres Lichtes ist viel günstiger und ihre Wärmeproduktion beträchtlich geringer.

Die dekapitierten Pflanzen hatten nach 2tägiger Verarmungszeit ihr phototropisches Reaktionsvermögen vollkommen verloren. Sie wurden nunmehr 16 Std lang von zwei parallel montierten 40 W-Osram-

Leuchtstoffröhren „HNT" einseitig mit 7000 Lux beleuchtet (Versuchsanordnung s. S. 114).

Die am Ende der Belichtungszeit völlig gerade gebliebenen Pflanzen wurden nunmehr im Dunkeln von der apikalen Schnittfläche her durch ein aufgesetztes Capillarröhrchen mit IES-Lösung (Konzentration 10 mg/l) versorgt. Zur Kontrolle dienten ebenso vorbehandelte Hypokotyle, die an Stelle der IES-Lösung reines H_2O zugeführt erhielten. Das tropistische Verhalten der so vorbehandelten Pflanzen wurde durch Schattenrißzeichnungen stündlich registriert.

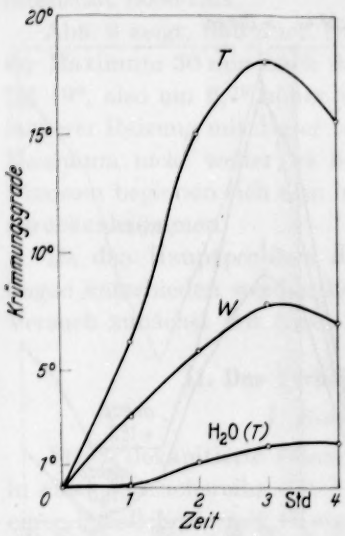


Abb. 11

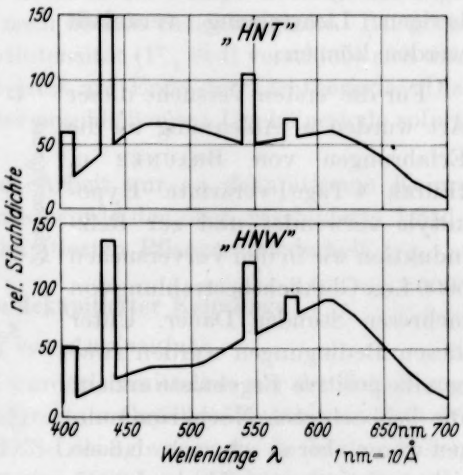


Abb. 12

Abb. 11. Verlauf der phototropischen Nachkrümmung dekapitierter, 2 Tage verarmter Pflanzen nach 16stündiger Vorbelichtung und anschließender IES-Versorgung. Anfang der Kurven: Zeitpunkt der IES-Zufuhr. *T* = Belichtung mit „Tageslicht" Leuchtstoffröhren HNT. *W* = Belichtung mit „Weißlicht" Leuchtstoffröhren HNW. H_2O = Wasserkontrollen

Abb. 12. Relative spektrale Energieverteilung in der Strahlung der verwendeten Leuchtstoffröhren HNT und HNW.

Abb. 11 zeigt das Ergebnis dieser Versuche: Die Wasserkontrollen lassen während der ersten Stunde noch keine Veränderung erkennen. Dann setzt eine ganz schwache positive Krümmung ein, deren Maximum unter 2° bleibt. Dieser geringfügige Effekt ist statistisch nicht gesichert (4 Std-Wert: $1{,}9 \pm 1{,}1°$). Ganz anders verhalten sich die mit IES belieferten Hypokotyle. Hier kommt es bereits während der 1. Std zu einer ansehnlichen Krümmung, die nach 3 Std ihren Maximalwert von $18 \pm 1{,}4°$ erreicht.

Nach der Erfahrung, daß Glühlicht selbst bei hoher Intensität in den verarmten Hypokotylen nur schwache Effekte hervorruft, schien es interessant, die induzierende Wirkung von Leuchtstoffröhren mit

längerwelliger Strahlenemission zu vergleichen. Eine Prüfung des Effektes von zwei parallel montierten 40 W-Osramröhren „Weiß" ergab in der Tat beträchtlich schwächere Reaktion. Der Maximalwert, der auch hier 3 Std nach der Auxingabe erreicht wurde, betrug nur 7,8° (vgl. Abb. 11).

Die Abb. 12 zeigt die Energieverteilung im Licht der beiden Röhrentypen[1]. Das Emissionsspektrum der Röhren „HNT" ist erheblich reicher an blauen und blaugrünen Strahlen als die Röhre „HNW". Nun hat BÜNNING (1938) bereits darauf hingewiesen, daß blaugrünes Licht für die phototropische Reaktion besonders wirksam ist, da es im Gegensatz zu den kurzwelligen blauvioletten Strahlen von Chlorophyll nicht absorbiert wird und daher für das Receptorsystem des Phototropismus ausreichend zur Verfügung steht.

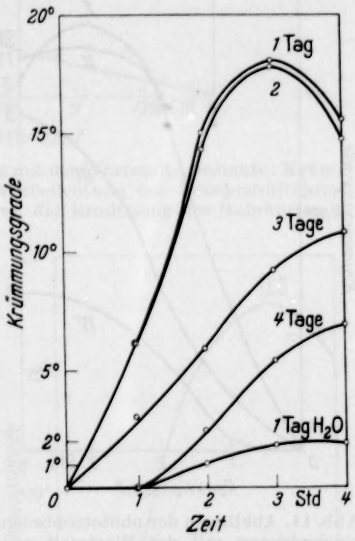


Abb. 13. Einfluß der Verarmungsdauer auf den Verlauf der phototropischen Nachwirkung. Pflanzen nach 1—4tägiger Verarmungsdauer 16 Std mit 7000 Lux (Leuchtstoffröhren „HNT") vorbelichtet und anschließend mit IES versorgt. H_2O = Wasserkontrollen nach 1tägiger Verarmungszeit

b) Einfluß der Verarmungsdauer. Zur Prüfung der Frage, welchen Einfluß die Verarmungsdauer auf das Ausmaß der Entwicklung der Krümmungsreaktion ausübt, wurden 1—4 Tage lang verarmte Pflanzen wie im vorigen Versuch vorbelichtet und anschließend mit IES versorgt.

In Abb. 13 sind die Reaktionskurven der vier Versuchsgruppen nebeneinander gestellt. Zwischen dem Reaktionsvermögen der 1 und 2 Tage lang verarmten Hypokotyle besteht praktisch noch kein Unterschied. Erst vom 3. Verarmungstag an macht sich ein starker Abfall des Effekts bemerkbar. 3 Tage verarmte Pflanzen haben sich am Ende der 3. Std nur noch halb so stark gekrümmt wie die 1 und 2 Tage verarmten Pflanzen; nach 4 Tagen ist die Reaktion auf unter ein Drittel abgesunken.

Bemerkenswert ist ferner, daß ein deutliches Reaktionsmaximum, wie es für die 1 und 2 Tage verarmten Hypokotyle charakteristisch ist, nach längerer Verarmungsdauer während der 4stündigen Beobachtungszeit nicht mehr auftritt.

Die Tatsache, daß 1 und 2 Tage verarmte, vorbelichtete Pflanzen nach IES-Zufuhr eine zwölfmal stärkere Nachkrümmung ausführen als

[1] Die notwendigen Angaben verdanke ich der Fa. Osram.

die Wasserkontrollen, erscheint für unser Grundproblem von entscheidender Bedeutung.

Damit ergeben sich gute Analogien zu den eingangs erwähnten geotropischen Versuchen von BRAUNER u. HAGER (1958). Über ein durchaus entsprechendes Verhalten phototropisch gereizter *Avena*-Koleoptilen konnte auch v. GUTTENBERG (1959) in einer inzwischen erschienenen Arbeit berichten.

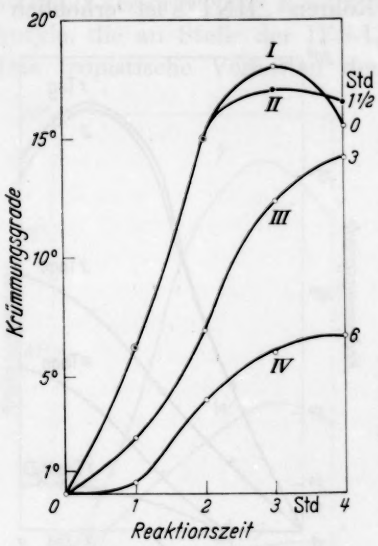


Abb. 14. Abklingen der phototropischen Nachwirkung mit der Wartezeit zwischen Belichtungsende und Auxingabe. Die Kurven *I*—*IV* zeigen den Verlauf der phototropischen Nachkrümmung nach 0—6 Std Wartezeiten. Vorbelichtung mit Leuchtstoffröhren „HNT" 16 Std × 7000 Lux nach 2tägiger Verarmungszeit. Anfang der Kurven = Zeitpunkt der IES-Zugabe

Die Vorstellung, daß die Primärreaktion beim Phototropismus in einer einseitigen *während* der Beleuchtung auftretenden Auxinphotolyse bestehen muß, ist nach diesen Versuchsresultaten nicht mehr aufrechtzuerhalten. Dem Phototropismus scheint also ein Primäreffekt zugrunde zu liegen, der sich auch ohne die Gegenwart von Auxin abspielen kann. Man könnte zunächst an eine Verlagerung, Neubildung oder Zerstörung eines Cofaktors des Auxins denken, der die Wirkung des Wuchsstoffes in irgendeiner Weise beeinflußt.

Wie lange diese durch Licht induzierte Polarisation in einer darauffolgenden Dunkelperiode erhalten bleibt, wurde in dem folgenden Versuch nachgeprüft:

c) Dauer der Nachwirkung der induzierten Polarisation. 2 Tage vor dem Versuch dekapitierte Keimlinge wurden wieder 16 Std lang mit Leuchtstoffröhren („HNT") vorbelichtet. Vor der IES-Gabe wurden jetzt aber verschieden lange Wartezeiten im Dunkeln (0—6 Std) eingeschaltet.

In Abb. 14 sind die Kurven der anschließend beobachteten Krümmungseffekte dargestellt. Ihr Verlauf zeigt deutlich, daß das Ausmaß der Nachkrümmung mit der Länge der Wartezeit drastisch absinkt.

In Abb. 15 ist dieser Abfall unter Zugrundelegung des 3 Std-Wertes der Krümmungen dargestellt. Selbst nach einer Wartezeit von 6 Std kommt noch eine, wenngleich sehr schwache Reaktion von etwa 6° zustande. Durch Extrapolierung läßt sich nun ungefähr der Zeitpunkt feststellen, von dem an die Polarisation völlig ausgeklungen sein dürfte: ~ 12 Std.

Andererseits gestattet der harmonische Verlauf der Kurve die Ermittlung der „Halbwertszeit" der Verarmung, der Zeit also, nach der

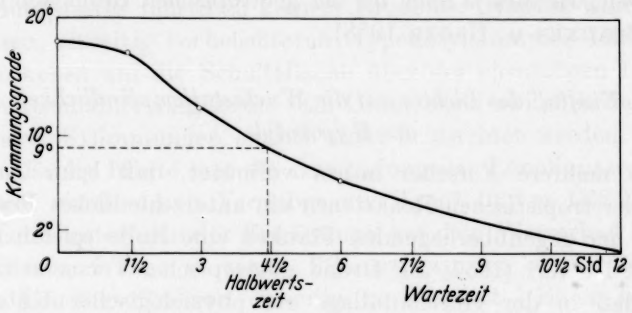


Abb. 15. Abklingen der phototropischen Nachwirkung mit der Wartezeit. Ordinate: Krümmungsmaxima der Abb. 14. Abszisse: Wartezeit. Vorbelichtung mit Leuchtstoffröhren „HNT" 16 Std × 7000 Lux. Punktierte Linien zeigen die Ermittlung der Halbwertszeit

der Anfangsreaktionswert (18°) auf seine Hälfte (9°) abgesunken ist: Sie beträgt etwa $4^1/_2$ Std.

d) Wirkung gewebefremder synthetischer Wuchsstoffe. Schließlich sei im folgenden versucht, die Frage zu beantworten, ob die phototropisch induzierte Polarität spezifisch auf IES eingestellt ist.

2 Tage vor dem Versuch dekapitierte Pflanzen wurden wie in den vorhergehenden Versuchen 16 Std lang mit Leuchtstoffröhren („HNT") einseitig belichtet. Nach der Belichtung wurden den Pflanzen mittels Capillarröhrchen äquimolekulare Lösungen folgender Wirkstoffe zugeführt:

β-Indolylessigsäure (IES)	10 mg/l
Naphtylessigsäure (NES)	10,6 mg/l
2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4 D)	12,6 mg/l
Indolacetonitril (IAN)	8,9 mg/l

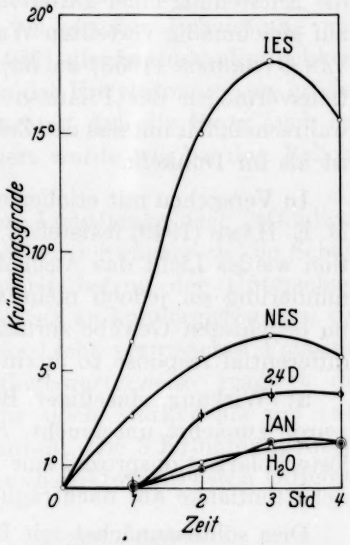


Abb. 16. Auslösung phototropischer Nachkrümmungen bei 2 Tage verarmten Pflanzen durch gewebefremde Wuchsstoffe. Zum Vergleich Reaktionskurve des entsprechenden IES-Versuches. Anfang der Kurven: Zeitpunkt der Wuchsstoffzugabe nach 16stündiger Vorbelichtung mit 7000 Lux (Leuchtstoffröhren HNT). IES = Indolylessigsäure; NES = Naphtylessigsäure; IAN = Indolylacetonitril; 2,4 D = Dichlorphenoxyessigsäure

Abb. 16 zeigt, daß außer IES auch NES und 2,4 D Nachkrümmungen auslösen können, wenngleich diese viel schwächer als bei IES-Zufuhr ausfallen; dies gilt vor allem für 2,4 D, bei der das Krümmungsmaximum nur noch 4° erreicht. IAN löst überhaupt keinen Effekt mehr aus [H_2O: $1{,}9 \pm 1{,}1°$; IAN: $1{,}9 \pm 1{,}3°$ (4 Std-Werte)].

Demnach können also auch chemisch ganz andersartige Wuchsstoffe als IES die durch das Licht induzierte Asymmetrie in Erscheinung treten lassen, wie dies ja auch bei der geotropischen Induktion der Fall ist (vgl. BRAUNER u. HAGER 1958).

3. Einfluß des Lichtes auf die Wuchsstoffempfindlichkeit des Hypokotyls

Bereits mehrere Forscher haben vermutet, daß beim Zustandekommen der tropistischen Reaktionen ein unterschiedliches Reaktionsvermögen der gegenüberliegenden Flanken eine Rolle spielen könnte: So kommt DE WIT (1957) auf Grund geotropischer Versuche zur Auffassung, daß in der Horizontallage ein physiologischer Unterschied zwischen Ober- und Unterseite induziert wird, der in seinem Verhalten dem Wuchsstoff gegenüber zum Ausdruck käme. Er denkt hierbei an die Entstehung einer Differenz in der „sensivity" oder der „reactivity" auf gleichmäßig verteilten Wuchsstoff. Für den *Phototropismus* konnte VAN OVERBECK (1933) an *Raphanus*-Keimlingen zeigen, daß das Reaktionsvermögen der Pflanzen (seiner Vermutung nach handelt es sich wahrscheinlich um das der Zellwände) auf Wuchsstoff im Licht geringer ist als im Dunkeln.

In Versuchen mit etiolierten Erbsen-Epikotylen konnten GALSION u. M. E. HAND (1949) feststellen, daß bei einer gegebenen Auxinkonzentration weißes Licht das Ausmaß des Wachstums herabsetzt. Diese Verminderung sei jedoch nicht auf eine Verringerung des Auxingehaltes im belichteten Gewebe zurückzuführen, "but rather to a light induced differential response to auxin".

a) Wirkung einseitiger Belichtung. In den folgenden Versuchen wurde zunächst untersucht, ob der durch einseitige Belichtung ausgelöste Polarisationsprozeß eine verschiedene Reaktion der Licht- und der Schattenflanke auf nachträglich zugeführtes IES zur Folge hat.

Dies sollte zunächst mit folgenden Methoden geprüft werden: Bei der 1. Methode wurde das Längenwachstum der opponierten Hälften an längshalbierten Hypokotylstücken gemessen. 2 Tage verarmte Pflanzen wurden 16 Std lang mit Leuchtstoffröhren einseitig belichtet. Mit einem mikrotomartigen Spaltapparat wurden die Hypokotyle sodann genau in der Mitte in ihre ehemalige Licht- und Schattenhälfte getrennt. Aus jeder Spalthälfte wurde nun ein 1 cm langes Stück herausgeschnitten. Diese Stücke wurden schließlich, nach Flanken getrennt, in 10^{-4} m IES-Lösung gelegt. Nach 6stündiger Einwirkungszeit auf der Schüttelmaschine wurde die Verlängerung der Stücke gemessen. Dabei konnte jedoch kein Unterschied im Zuwachs der Licht- und Schattenseite festgestellt werden.

Auch eine 2. Versuchsanordnung nach dem Prinzip des Wentschen Krümmungstestes führte zu keinem Ergebnis. Hierbei wurden 2 Tage verarmten, einseitig vorbelichteten Hypokotylstümpfen IES-getränkte Agarblöckchen auf die Schnittfläche über der ehemaligen Licht- bzw. der Schattenflanke aufgesetzt. Ein Unterschied zwischen den sich entwickelnden Krümmungen konnte nicht beobachtet werden.

Zum Erfolg führte erst die Anwendung der Lanolinpastenmethode. Die Paste wurde durch Verreiben von 1 cm^3 10^{-4} m IES-Lösung mit 1 g Lanolin unter gelinder Erwärmung auf dem Wasserbad hergestellt. Dekapitierte, 2 Tage verarmte Pflanzen wurden wieder 16 Std lang mittels Leuchtstoffröhren einseitig vorbelichtet. Einer Gruppe der Pflanzen wurde nun auf der ehemaligen Lichtflanke ein 10 mm langer IES-Lanolin-Pastenstreifen aufgetragen; bei der anderen Gruppe wurde der Pastenstreifen auf die ehemalige Schattenseite aufgestrichen. Als Kontrollen dienten belichtete Pflanzen bei gleicher Behandlung mit H_2O-Lanolinpaste. Da nach Zeybek (1957) die Auxinempfindlichkeit des *Helianthus*-Hypokotyls auf den Seiten der Kotyledonarebene größer ist als senkrecht dazu, wurde darauf geachtet, daß die Paste auch bei den Kontrollen derselben Flanke appliziert wurde wie bei den Belichtungsversuchen.

In diesem Versuch reagierte die frühere Lichtflanke nach 2stündiger Einwirkungszeit der IES-Paste ausgesprochen schwächer als die Schattenseite. Nach 2stündiger Einwirkungszeit betrug der Unterschied 6 ± 2^0. Nach der 3. Std beginnen die Kurven zu konvergieren, was die Vermutung nahe legt, daß die durch das Licht verursachte Polarität langsam abzuklingen beginnt. Bemerkenswerterweise reagiert die Schattenflanke auf seitliche IES-Zufuhr noch stärker als die entsprechende Flanke von ungereizten Pflanzen. Die 3 Krümmungswerte betragen nach 2 Std, dem Zeitpunkt ihrer charakteristischsten Differenzierung:

Schattenflanke	$23{,}0 \pm 1{,}20^0$
Ungereizte Pflanze	$19{,}8 \pm 1{,}55^0$
Lichtflanke	$17{,}0 \pm 1{,}60^0$

Die Reaktion der unbelichteten Hypokotyle liegt demnach ziemlich genau in der Mitte zwischen denen der Licht- und der Schattenflanke der einseitig vorbelichteten Proben (vgl. Abb. 17).

Aus dem Versuch geht also hervor, daß einseitige Belichtung die Wuchsstoffempfindlichkeit der opponierten Flanken gegensinnig beeinflußt. Es wäre daher mit der Möglichkeit zu rechnen, daß dieser Effekt durch die transversale Verlagerung eines auch im verarmten Gewebe noch vorhandenen Cofaktors des Auxins (vgl. Brauner u. Hager 1958) hervorgerufen wird. Ob es sich bei diesem Cofaktor um einen Wuchsstoff-Synergisten oder um einen Antagonisten handelt, kann noch nicht

eindeutig entschieden werden. Im ersteren Fall müßte eine Verlagerung des Cofaktors von der Licht- zur Schattenseite angenommen werden; dieser würde dann dort das Reaktionsvermögen des Gewebes auf IES erhöhen und so eine Förderung des Wachstums selbst im Vergleich mit dem unbelichteter Pflanzen hervorrufen. Seine Konzentrationsabnahme auf der Lichtseite würde für das hier beobachtete Absinken der Reaktionsfähigkeit verantwortlich sein.

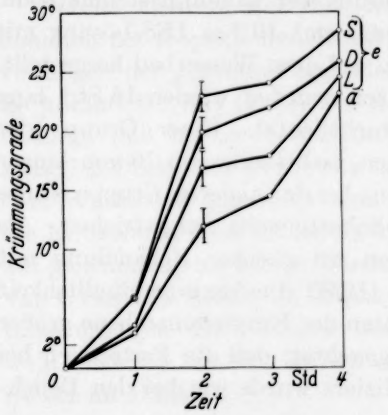


Abb. 17. Beeinflussung der Reaktionsfähigkeit des Hypokotylgewebes auf IES-Lanolinpaste durch einseitige bzw. antagonistische Vorbelichtung. 7000 Lux × 16 Std Leuchtstoffröhren „HNT". *S* = Schattenflanke; *L* = Lichtflanke; *D* = Dunkelkontrolle; *e* = Pflanzen einseitig vorbelichtet; *a* = Pflanzen antagonistisch vorbelichtet. Anfang der Kurven = Zeitpunkt der Wuchsstoffgabe. — Für die 2 Std-Werte ist der einfache mittlere Fehler mit eingezeichnet

In diesem Zusammenhang ist auch an die Wachstumsversuche von BEYER (1927) zu erinnern, in denen die Schattenseite einseitig belichteter *Avena*-Keimlinge sich stärker verlängerte als eine völlig verdunkelte Koleoptile.

b) Einfluß antagonistischer Belichtung. Daß diese Verlagerung des Cofaktors aber nicht die alleinige Ursache des unterschiedlichen Wachstums von Licht- und Schattenseite sein kann, zeigt der folgende Versuch mit antagonistischer Beleuchtung (Abb. 17): Zur Verwendung kamen wiederum dekapitierte, 2 Tage verarmte Pflanzen. Sie wurden diesmal mit je zwei Leuchtstoffröhren („HNT") 16 Std lang antagonistisch vorbelichtet. Die photometrische Mitte zwischen den beiden Lampensystemen war vorher mit intakten Testpflanzen festgestellt worden. Unmittelbar danach wurde auf eine Flanke der Hypokotyle ein 1 cm langer IES-Lanolinpastenstreifen aufgetragen. Als Kontrollen dienten verdunkelt gehaltene Pflanzen.

Bereits nach der 1. Std war ein deutlicher Unterschied im Verhalten der Licht- und der Dunkelpflanzen zu beobachten, der nach 2 Std ein Maximum von fast 8° zugunsten der Dunkelpflanzen erreichte (Dunkelpflanzen $19{,}8 \pm 1{,}55°$; Lichtpflanzen $12{,}0 \pm 1{,}42°$). Nach der 3. Std steigt in diesen Versuchen die Lichtkurve wieder auffällig stark an, was zu einer drastischen Verringerung des Defizits gegenüber der Dunkelreaktion führt (Abb. 17). Am Ende der 4. Std beträgt der Unterschied zwischen den beiden Krümmungen nur noch 2,5°. Wie im vorigen Versuch zeigt sich also auch hier wieder die Tendenz eines langsamen Abklingens der Lichtwirkung.

In seiner kürzlich erschienenen Arbeit berichtet v. GUTTENBERG (1959) über einen ähnlichen Versuch mit Haferkoleoptilen, der den von uns beobachteten Grundeffekt *nicht* erkennen ließ:

Er belichtete dekapitierte, blatthaltige Haferkoleoptilen antagonistisch. Danach wurden den ungekrümmt gebliebenen Pflanzen auf die Schnittfläche einseitig Auxinagarblöckchen aufgesetzt und ebenso verdunkelt gebliebenen Kontrollen. In beiden Fällen, bei den Kontrollen wie auch bei den antagonistisch belichteten Pflanzen, traten völlig identische Krümmungen auf (24,66° bzw. 24,65°). Die Ursache dieses negativen Ergebnisses dürfte in der Methodik des Versuches liegen. Auch unsere *Helianthus*-Hypokotyle ließen ja bei Anwendung des Agarwürfeltestes keine Herabsetzung ihrer Wuchsstoffempfindlichkeit nach Belichtung erkennen. Der Grund für das Versagen dieser Methode läßt sich zur Zeit noch nicht erkennen.

Der in den oben geschilderten Auxinpastenversuchen beobachtete Effekt der antagonistischen Belichtung war so beträchtlich und auch statistisch so gut zu sichern, daß an seiner Realität nicht gezweifelt werden kann. Es ist daher bereits angebracht, die möglichen Ursachen seiner Entstehung zu erwägen. Daß symmetrische Beleuchtung unter allen geprüften Bedingungen die stärkste Verringerung der Auxinwirkung verursacht, läßt sich nicht mehr durch die alleinige Annahme einer Cofaktor-*Verschiebung* erklären, da der wirksame Stoff in diesem Fall höchstens bis zur Mittelebene des Organs verlagert worden sein könnte. Man wird daher an irgendeine allseitige Veränderung (Photolyse?) des Auxin-Cofaktors oder eines anderen für den Wachstumsmechanismus wesentlichen Stoffes denken müssen, die durch den höheren Lichtgenuß des Gewebes bei zweiseitiger Bestrahlung vermutlich ein größeres Ausmaß erreicht als in der Lichtflanke des einseitig beleuchteten Organs.

Eine ähnliche Vorstellung hat bereits GRADMANN (1930) entwickelt. Er nahm die Existenz zweier synergistischer, für sich allein unwirksamer Stoffe A und B an, die erst nach ihrer Vereinigung zum Komplex AB zum aktiven Wuchsstoff werden. A ist der Stoff, der in der Organspitze entsteht, B soll in den tieferliegenden Zonen produziert werden. GRADMANN nimmt an, daß tropistische Reizung primär eine Asymmetrie in der Bildung von B verursacht, die ihrerseits zu einer asymmetrischen Verteilung des von der Spitze kommenden Stoffes A führen soll.

Wenn man nun etwas präziser als Primäreffekt des Reizes eine *Inaktivierung* des Stoffes B annimmt, so liefert die Gradmannsche Hypothese auch eine Grundlage für die Erklärung der hemmenden Wirkung allseitiger Bestrahlung.

E. Schlußbemerkungen

Der Hauptbefund dieser Arbeit, daß Belichtung auch in wuchsstoffreien Hypokotylen die phototropische Reaktion zu induzieren vermag, ist mit den bisherigen Grundvorstellungen vom Wesen der phototropischen Induktion nicht zu vereinbaren. Denn diese setzen ja eine Mitwirkung des Auxins bereits an der primären Lichtreaktion voraus: Seine direkte Photolyse in der Lichtflanke oder seine unmittelbare Verlagerung nach der Schattenflanke.

Argumente gegen eine Beteiligung dieser beiden Faktoren an der phototropischen Wachstumskrümmung hat bereits REISENER (1958) vorgebracht. In seinen Versuchen mit *Avena*-Koleoptilen, die radioaktive IES aufgenommen hatten, war bei der 1. und 2. positiven Krümmung keine Querverschiebung des markierten Auxins nachzuweisen. Ferner stellte REISENER fest, daß Lichtmengen, die bereits die 2. positive Krümmung auslösen, in vitro mit Riboflavin sensibilisierte IES-Lösungen noch nicht zu photolysieren vermögen. REISENER denkt nun an eine Zerstörung von Vorstufen des Wuchsstoffes bzw. der zu seiner Bildung nötigen Enzyme oder eine Beeinflussung anderer, für das Wachstum bedeutsamer Wirkstoffe durch das Licht. Weiter rechnet er mit der Möglichkeit einer Aktivierung der natürlich vorhandenen IES-Oxydasen, etwa durch Zerstörung ihres Hemmstoffes sowie mit einer Änderung der Auxinempfindlichkeit des Gewebes. Schließlich werden auch Änderungen der Viscosität oder der Permeabilität als Primärursache für das Zustandekommen der Lichtkrümmungsreaktion in Erwägung gezogen. Da nun eine wirksame Photoinduktion auch im wuchsstoffverarmten Zustand möglich ist, stellt sich das Problem, welche primären Veränderungen im auxinfreien Gewebe noch möglich sind. Zunächst muß auch in ihm noch ein Photoacceptor vorhanden geblieben sein, der die einfallende Strahlung chemisch nutzbar macht. Weiter kann vermutet werden, daß im verarmten Gewebe noch ein Cofaktor des Auxins verblieben ist, dessen Menge oder Aktivität sich bei Bestrahlung ändert. Dafür sprechen die Ergebnisse unserer Auxinpastenversuche nach antagonistischer Belichtung.

Wie aus unseren IES-Pastenversuchen nach *einseitiger* Belichtung hervorgeht, scheint jedoch außer der Aktivitätsänderung auch eine zusätzliche Querverschiebung dieses Auxin-Cofaktors stattzufinden. Damit würde der Mechanismus der phototropischen Induktion in einem wichtigen Punkt dem Primäreffekt beim Geotropismus entsprechen (vgl. BRAUNER u. HAGER 1958). Ob es sich bei dem postulierten Cofaktor um einen Wuchsstoffsynergisten oder um einen Antagonisten handelt, kann zur Zeit noch nicht eindeutig entschieden werden. Die bisher vorliegenden Indizien sprechen zunächst für einen Synergisten. Eine konkrete Möglichkeit zur Interpretation des hier

wirksamen Systems ergibt sich aus der Vorstellung von LEOPOLD und seiner Schule, daß Indolylessigsäure ihre physiologische Wirksamkeit erst nach Anlagerung von Coenzym A (CoA) gewinnt. LEOPOLD u. GUERNSEY (1953) konnten wahrscheinlich machen, daß IES sich nur durch die reduzierte Form von CoA aktivieren läßt. Sollte nun CoA tatsächlich der gesuchte Wuchsstoff-Synergist sein, so würde eine Photooxydation seiner SH-Gruppe die bei Belichtung beobachtete Inaktivierung des Systems erklären.

Diese Vorstellung geht von der schon erwähnten Hypothese von GRADMANN (1930) aus. Nach der oben geschilderten Vorstellung wäre der von ihm postulierte Stoff A der Indolylessigsäure, der Stoff B dem Cofaktor (CoA ?) gleichzusetzen. An Stelle der Annahme GRADMANNs daß durch die tropische Reizung primär eine asymmetrische Neubildung von B verursacht würde, müßte jetzt jedoch an seine Inaktivierung (Oxydation des CoA ?) gedacht werden.

Als der erste Schritt der Lichtwirkung wäre eine Erhöhung der H-Affinität des Sensibilisators (Riboflavin ?) anzunehmen, die dann eine Oxydation der SH-Gruppe des CoA hervorrufen könnte. Da diese Oxydation reversibel ist, würde die Nachwirkungsdauer eines Lichtreizes der Regenerationszeit der SH-Form entsprechen.

Nimmt man also primär eine Cofaktor-Photolyse an, so müßte nicht mehr mit einer nachträglichen Zerstörung der IES selbst gerechnet werden, die ja auch v. GUTTENBERG (1959) für ausgeschlossen hält, sondern es würde dann einfach die Aktivierung der zuströmenden IES unterbleiben. Bei einseitiger Belichtung müßte sich daher „unverbrauchte" IES auf der Lichtseite stauen und von dort zusätzlich nach der Schattenseite strömen, wo sie sich mit dem hier noch reichlich vorhandenen Cofaktor zum wirksamen Komplex verbinden würde.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, daß für die Induktion des Phototropismus die Gegenwart von Auxin *während* der Belichtung keineswegs Grundbedingung ist. Die geschilderten Beobachtungen schließen jedoch keineswegs aus, daß im wuchsstoffhaltigen Organ auch eine Photolyse oder eine Verlagerung von IES selbst an der Reaktion teilnehmen.

Daß der Erfolg der phototropischen Reizung häufig durch mehrere gleichsinnig wirkende Mechanismen gesichert wird, geht auch aus dem bekannten Versuch von BOYSEN-JENSEN (1928) hervor. Wird die gespaltene Spitze einer Koleoptile senkrecht zum eingesetzten Glimmerblättchen belichtet, so ist der Krümmungseffekt zwar stark abgeschwächt, aber keineswegs ganz aufgehoben. Dies zeigt wiederum, daß am Phototropismus der Koleoptile neben dem in diesem Versuch blockierten Quertransport eines Wuchsstoffes auch noch dessen einseitige Inaktivierung beteiligt ist. Offenbar verstärken diese beiden Faktoren beim phototropischen Induktionsvorgang normalerweise den Gesamteffekt der Belichtung, sie können sich aber auch gegenseitig vertreten.

Zusammenfassung

In dieser Arbeit wird das Problem untersucht, ob für die Induktion der phototropischen Reizkette die Anwesenheit von Auxin Grundbedingung ist. Als Versuchsobjekt diente das Hypokotyl von *Helianthus annuus*. In Vorversuchen wurde zunächst der Verlauf der phototropischen Reaktionen bei intakten und bei dekapitierten Keimlingen verglichen.

1. Intakte Keimlinge erreichen bei Dauerbestrahlung mit 3000 Lux Glühlicht senkrecht zu der Kotyledonarebene nach 4 Std einen Krümmungswert von 34°. Bei frisch dekapitierten Pflanzen ruft die gleiche Belichtung nur eine Reaktion von 14,5° hervor.

2. Versuche bei Einschaltung verschieden langer Wartezeiten zwischen Dekapitation und Reizung zeigten, daß die Entfernung der Kotyledonen und der Plumula die phototropische Reaktionsfähigkeit des Hypokotyls beträchtlich früher und drastischer herabsetzt als sein geotropisches Reaktionsvermögen. Bereits nach 8 Std Verarmungsdauer rief 3000 Lux Dauerlicht keine Krümmung mehr hervor, während die geotropische Reaktion dann noch über 61% der von intakten Pflanzen erreicht.

3. Der nach Dekapitation festgestellte Abfall der Wachstumsgeschwindigkeit ist nicht groß genug, um das schnelle Absinken des phototropischen Reaktionsvermögens durch den Verlust an Wuchsstoff erklären zu können.

4. Es ist daher zu vermuten, daß das Gewebe bei seiner Verarmung nicht nur Auxin verliert, sondern auch noch einen anderen Wirkstoff, der für die Auslösung des Phototropismus wesentlich zu sein scheint, nicht aber für die Induktion der geotropischen Krümmung. Wahrscheinlich handelt es sich dabei um einen Photosensibilisator. Für diese Annahme sprechen folgende Beobachtungen:

Belichtung von 4 Tage verarmten, mit synthetischer IES versehenen Hypokotylen führt im Vergleich zum Verhalten intakter Pflanzen nur zu schwachen Krümmungen (~26% der normalen Reaktion). Solche Stümpfe reagieren jedoch geotropisch noch kräftig.

Frisch dekapitierte, mit IES versorgte Hypokotyle sind dagegen imstande Krümmungen auszuführen, die an jene intakter Pflanzen bis auf 95% herankommen, während die mit dest. H_2O versehenen Kontrollen nur 55% der normalen Reaktion erreichen. Der limitierende Faktor ist hier demnach das Auxin.

5. 2 Tage verarmte Hypokotyle lassen selbst bei 16stündiger Belichtung mit 7000 Lux (Leuchtstoffröhren „HNT") keine phototropische Reaktion mehr erkennen. Werden sie jedoch *nach* der Reizung im Dunkeln von der Schnittfläche her symmetrisch mit IES-Lösung (10 mg/l) versorgt, so zeigen sie eine ansehnliche Nachkrümmung (18°)

im Sinne der vorherigen Reizrichtung. Bei Verlängerung der Verarmungsdauer über 2 Tage (Zeitabstand zwischen Dekapitation und Belichtung der Keimlinge) wird die Nachreaktion zunehmend abgeschwächt.

6. Auch gewebefremde Wuchsstoffe (NES, 2,4 D) lösen in dem durch das Licht polarisierten Organ phototropische Nachkrümmungen aus. Verglichen mit dem Effekt von IES, ist ihre Wirkung hier jedoch schwächer als in geotropisch induzierten Hypokotylen. IAN erwies sich, wie schon bei geotropischer Reizung, als inaktiv.

7. Die induzierte Polarisation wirkt auch nach dem Aufhören des Reizes noch mehrere Stunden lang nach. Selbst nach sechsstündiger Wartezeit ruft Auxinzufuhr noch deutliche Krümmungen im Sinne des ursprünglichen Lichtreizes hervor. Die nach $4^1/_2$ Std Wartezeit ausgelösten Nachkrümmungen erreichen noch 50% des Ausgangswertes („Halbwertszeit").

8. Um zu ermitteln, ob an der beobachteten Polarisation eine Veränderung des Reaktionsvermögens des belichteten Gewebes auf Auxin beteiligt ist, wurden wuchsstoffverarmte, antagonistisch vorbelichtete Hypokotyle und entsprechende Dunkelkontrollen einseitig mit Auxinpastenstreifen versehen. Nach 2 Std betrug die Krümmungsreaktion der Lichtpflanzen 12°, die der Dunkelpflanzen dagegen 19,8°. Nach *einseitiger* Vorbelichtung reagierte die Dunkelflanke stärker, die Lichtflanke dagegen schwächer als die entsprechende Flanke der Dunkelkontrollen. Aus diesem Ergebnis ist zu schließen, daß der lichtempfindliche Cofaktor des Auxins bei allseitiger Belichtung seine Konzentration verändert, bei einseitiger Belichtung sich aber auch transversal verlagert.

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, Herrn Prof. Dr. Leo Brauner für die Überlassung des Themas, für das stete freundliche Interesse am Fortgang dieser Arbeit sowie für seine zahlreichen Anregungen herzlichst zu danken.

Herrn Oberwerkmeister Richard Fehlner danke ich für die Anfertigung von Versuchsapparaturen.

Literatur

Audus, L. J., and M. E. Brownbridge: Studies on the geotropism of roots I. Growthrate distribution during response and the effects of applied auxin. J. exp. Bot. 8, 105—124 (1957).

Avery, G. J., and C. D. la Rue: Growth and tropic responses of exeised *Avena* coleoptiles in culture. Bot. Gaz. **100**, 186—199 (1938).

Bara, M.: La quantité fonctionelle relative de l'hétéroauxine dans les réactions phototropiques et géotropiques. Rev. Fac. Sci. Univ. Istanbul B **22**, 209—236 (1957).

Bentley, J. A.: An examination of a method of auxin essay using the growth of isolated section of *Avena* coleoptiles in test solutions. J. exp. Bot. **1**, 201—213 (1950).

BEYER, A.: Experimentelle Studien zur Blaauwschen Theorie I, 1. Mitteilung: Die Wachstumsverhältnisse bei der phototropischen Krümmung vorbelichteter *Avena*-Keimlinge. Planta (Berl.) **4**, 411—436 (1927).

— Untersuchungen zur Theorie der pflanzlichen Tropismen. Planta (Berl.) **18**, 506—524 (1932).

BOSE, I. C.: Comparative Elektrophysiology. London 1907.

BOTJES, J. O.: Induction of polarity by geotropical stimulation in tomato plants lacking growth substance owing to being kept in the dark. Proc. kon. med. Akad. Wet. **41** (2), 161—166 (1938).

BOYSEN JENSEN, P.: Die phototropische Induktion in der Spitze der *Avena*-Koleoptile. Planta (Berl.) **5**, 464—477 (1928).

BRAUNER, L.: Lichtkrümmung und Lichtwachstumsreaktion. Z. Bot. **8**, 497—547 (1922).

— Untersuchungen über das geoelektrische Phänomen. Jb. wiss. Bot. **66**, 381—427 (1927).

— Untersuchungen über die Photolyse des Heteroauxins I. Z. Bot. **41**, 291—341 (1953).

—, u. A. HAGER: Versuche zur Analyse der geotropischen Perzeption I. Planta (Berl.) **51**, 115—147 (1958).

—, u. Y. VARDAR: Über die Funktion der Lamina bei der phototropischen und geotropischen Reaktion des *Tropaeolum*-Blattes. Rev. Fac. Sci. Univ. Istanbul B **15**, 269—299 (1950).

BRIGGS, W. R., R. D. TOCHER and J. F. WILSON: Phototropic auxin redistribution corn coleoptiles. Science **126**, 210—212 (1957).

BÜNNING, E.: Untersuchungen über traumatische Reizung von Pflanzen. Z. Bot. **19**, 433—472 (1927).

— Aufnahme und primäre Wirkung der Lichtreize in der Pflanze. Forsch. Fortschr. dtsch. Wiss. **14**, 56—57 (1938).

—, u. H. J. REISENER: Versuche mit radioaktiver IES zur Prüfung der sog. Ablenkung des Wuchshormonstromes durch Licht. Z. Naturforsch. **11 b**, 363—364 (1956).

BURKHOLDER, P. R., and E. S. JOHNSTON: Inactivation of plant growth substance by light. Smithson. Inst. Misc. Coll. **95**, 1—14 (1937).

BUY, H. G. DU: Über Wachstum und Phototropismus von *Avena sativa*. Rec. Trav. bot. néerl. **30**, 798—925 (1933).

DIJKMAN, M. J.: Wuchsstoff und geotropische Krümmung bei *Lupinus*. Rec. Trav. bot. néerl. **31**, 391—450 (1934).

DOLK, H. E.: Geotropism and the growth substance. Rec. Trav. bot. néerl. **33**, 509—585 (1936).

GALSTON, A. W.: Inactivation of enzymes by visible light in the presence of Riboflavin. Science **109**, 485—486 (1949).

— Phototropism of stems, roots and coleoptiles. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 17/1, S. 492—529. 1958.

—, and M. E. HAND: Studies on the physiology of light action I. Auxin and light inhibitions of growth. Amer. J. Bot. **36**, 85—94 (1949).

GORDON, S. A., and M. EIB: Auxin transport in the phototropic response. Plant Physiol. **31**, Suppl. XIV (1956).

GRADMANN, H.: Die tropistischen Krümmungen als Auswirkungen eines gestörten Gleichgewichtes. Jb. wiss. Bot. **72**, 513—610 (1930).

GUTTENBERG, H. v.: Über die Perzeption des phototropen Reizes. Planta (Berl.) **53**, 412—433 ((1959).

Laibach, F., u. F. Meyer: Über die Schwankungen des Auxingehaltes bei *Zea mays* und *Helianthus annuus* im Verlauf der Ontogenese. Senckenbergiana **17**, 73—86 (1935).

Leopold, A. C., and F. S. Guernsey: A theory of auxin action involving Coenzyme A. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **39**, 1105—1111 (1953).

Nitsch, J. P.: Methods for the investigation of natural auxins and growth inhibitors. In: The chemistry and mode of action of plant growth substances. London 1955.

Oppenoorth, W. F. F.: On the role of auxin in phototropic and lightgrowth reaction of *Avena* coleoptiles. Rec. Trav. bot. néerl. **38**, 287—372 (1941).

Overbeek, J. van: Wuchsstoff, Lichtwachstumsreaktion und Phototropismus bei *Raphanus*. Rec. Trav. bot. néerl. **30**, 537—626 (1933).

— E. S. de Vasquez and S. A. Gordon: Free and bound auxin in the vegetative pine-apple plant. Amer. J. Bot. **34**, 266—270 (1946).

Paál, A.: Über phototrope Reizleitung. Jb. wiss. Bot. **58**, 406—453 (1918).

Reinert, I.: Über die Wirkung von Riboflavin und Carotin beim Phototropismus von *Avena*-Koleoptilen und bei anderen pflanzlichen Reizreaktionen. Z. Bot. **41**, 103—122 (1953).

Reisener, H. J.: Untersuchungen über den Phototropismus der *Avena*-Koleoptile. Z. Bot. **46**, 474—505 (1958).

Ruge, U.: Untersuchungen über den Einfluß des Heteroauxins auf das Streckungswachstum des Hypokotyls von *Helianthus annuus*. Z. Bot. **31**, 1—56 (1937).

— Über die geotropische Aufkrümmung dekapitierter *Helianthus*-Keimlinge. Planta (Berl.) **32**, 176—186 (1941/42).

Schneider, C. L.: The interdependence of auxin and sugar for growth. Amer. J. Bot. **25**, 258—270 (1938).

Strugger, S.: Über das Wachstum dekapitierter Keimpflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **51**, 193—209 (1933).

Thimann, K. V.: Plant growth hormones. In: Symposium, The chemistry and physiology of growth, edit. by Parpart. Princeton: A. K. Princeton Univ. Press 1949.

Waller, A. D.: Signs of Life. New York 1903.

Walter, H.: Wachstumsschwankungen und hydrotrop. Krümmungen bei *Phycomyces nitens*. Z. Bot. **13**, 673—718 (1921).

Webster jr., W. W., and A. R. Schrank: Electrical induction of lateral transport of 3-IAA in the *Avena*-coleoptile. Arch. Biochem. **47**, 107—118 (1953).

Went, F. W.: Wuchsstoff und Wachstum. Rec. Trav. bot. néerl. **25**, 1—114 (1929).

Wit, J. L. de: Growth-substance relations in the *Avena*-coleoptile, studied by means of the geotropic response. Acta bot. neerl. **6**, 1—45 (1957).

Zeybek, N.: Untersuchungen über den Mechanismus von artifiziell ausgelösten Wachstumstorsionen an *Helianthus annuus* Hypokotylen. Rev. Fac. Sci. Univ. Istanbul B **22**, 1—44 (1957).

Dr. Rosemarie Diemer,
München 19, Menzinger Str. 67, Botanisches Institut der Universität

Planta 57, 138—155 (1961)

Aus der Lehr- und Forschungsanstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau
Geisenheim a. Rhein

ÜBER DEN EINFLUSS DER ASCORBINSÄURE AUF DAS WELKEN ABGESCHNITTENER TOMATENPFLANZEN*

Von

HANS ROBERT BODE

Mit 9 Textabbildungen

(Eingegangen am 8. Mai 1961)

Bei der Untersuchung des Einflusses, den bestimmte Stoffe der Regentraufe von *Juglans nigra* auf die Adventivwurzelbildung abgeschnittener Tomatenpflanzen ausüben (BODE 1958), zeigten die in Geisenheimer Leitungswasser stehenden Kontrollpflanzen kurze Zeit nach dem Einsetzen starke Welkungserscheinungen. Eine Ausnahme machten Pflanzen von Versuchsreihen, in denen dem Leitungswasser *Ascorbinsäure* zugesetzt worden war. Die Ascorbinsäure diente hierbei als Vergleichssubstanz zum Juglon, das die Adventivwurzelbildung abgeschnittener in Leitungswasser stehender Tomatenpflanzen beeinflußt.

Ein Zusatz von Ascorbinsäure (AS) hebt die im Geisenheimer Leitungswasser an abgeschnittenen Tomatenpflanzen auftretende Welkungserscheinung auch bei ungehinderter Sonneneinwirkung auf (Abb. 1). Das an den abgeschnittenen Tomatenpflanzen nach ihrer Übertragung in Geisenheimer Leitungswasser zu beobachtende Welken hängt wahrscheinlich mit dem hohen Härtegrad dieses Wassers zusammen. Als Hauptbestandteile enthält sein Rückstand pro Liter 24 mg K_2O, 68 mg Na_2O, 125 mg CaO und 4 mg Mn, außerdem Spuren von Eisen. Das Einsaugen des an Carbonaten reichen Wassers in die Leitungsbahnen der mit der Schnittfläche ihrer Sprosse in Leitungswasser stehenden Tomatenpflanzen macht sich über die Leitparenchymscheiden bis in die letzte Nervenverästelung im Blatt in einer Erhöhung des Filtrationswiderstandes bei der Wasserentnahme aus den Gefäßen geltend. Es schien mir von Interesse, der auffälligen Verhaltensänderung der Tomatenpflanzen gegenüber der Härte des Leitungswassers nach Zugabe von Ascorbinsäure nachzugehen, zumal hier Zusammenhänge im Wasserhaushalt berührt werden, die bisher wenig erforscht sind. Die günstige Beeinflussung der Wasserbilanz der Versuchspflanzen durch Zuführung von AS kann auf sehr verschiedenen Ursachen beruhen. Zu denken war

* WALTER SCHUMACHER zu seinem 60. Geburtstag gewidmet.

etwa an eine stoffwechsel*spezifische* Wirkung dieser schwachen organischen Säure, etwa über die *Atmung*. Zuvor mußte jedoch geklärt werden inwieweit die H-Ionenkonzentration und eine eventuelle *Chelatbildung* mithineinspielen.

Material und Anzucht

Die für die Versuche verwendeten Tomatenpflanzen (Sorte Haubners Vollendung) wurden in einem Gewächshaus in Töpfen in einem Erdgemisch aus Kompost, Sand und Torf angezogen. In den lichtarmen Herbst- und Wintermonaten

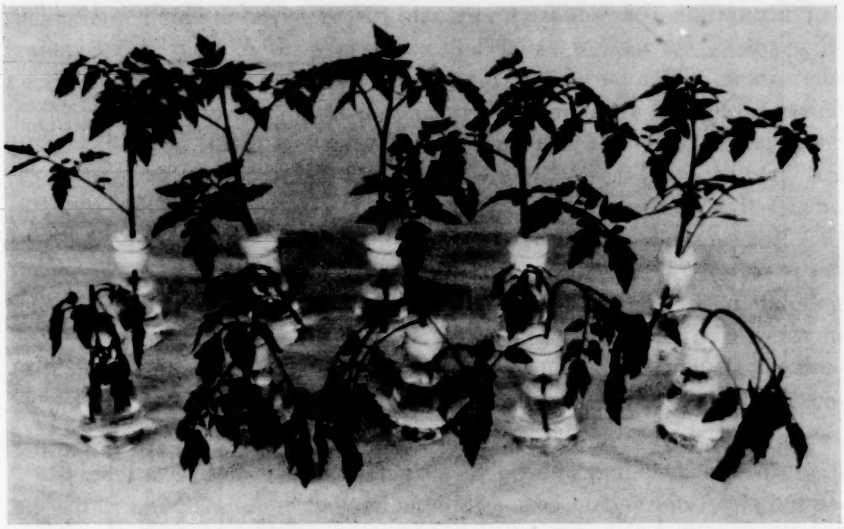


Abb. 1. Die Tomatenpflanzen der vorderen Reihe stehen in reinem Geisenheimer Leitungswasser und sind stark gewelkt. Die aufrecht stehenden Pflanzen der hinteren Reihe haben einen Zusatz von Ascorbinsäure (n/1000) zum Leitungswasser erhalten

geschah die Anzucht unter künstlicher Beleuchtung mit parallelgeschalteten Leuchtröhren (Philips TLF 65 W/33). Die 5—6 Wochen alten Pflanzen einer Versuchsserie befanden sich stets in gleichem Entwicklungszustand und hatten sechs bis acht voll entwickelte Blätter. Die Pflanzen wurden vor dem Versuch dicht oberhalb der Kotyledonen mittels einer Rasierklinge abgeschnitten.

Vergleichende Transpirationsversuche

Abgeschnittene Pflanzen und Pflanzenteile haben aus vielerlei Ursachen eine der intakten bewurzelten Pflanzen gegenüber veränderte Transpirationsrate. Die Gegenüberstellung der von bewurzelten und abgeschnittenen Tomatenpflanzen gleichzeitig erreichten Transpirationswerte zeigt für die in Leitungswasser stehenden Pflanzen (Ltw-Pflanzen) ein fortschreitendes Absinken ihrer Wasserabgabe (Abb. 2, *L*). Dagegen verläuft die Transpirationskurve der in Leitungswasser mit Ascorbinsäurezusatz stehenden Pflanzen (AS-Pflanzen) gleichsinnig mit der von

bewurzelten Pflanzen (I-Pflanzen). Die absoluten Werte der AS-Pflanzen sind gegenüber den intakten leicht reduziert (Abb. 2, *AS*). Der Zusatz von AS zum Leitungswasser ermöglicht den Pflanzen fast gleichhohe Transpiration, während bei den Ltw-Pflanzen mit fortschreitendem Welken die Transpiration infolge erschwerter Wasserzufuhr auf einen Bruchteil ihrer ursprünglichen Größe zurückgeht.

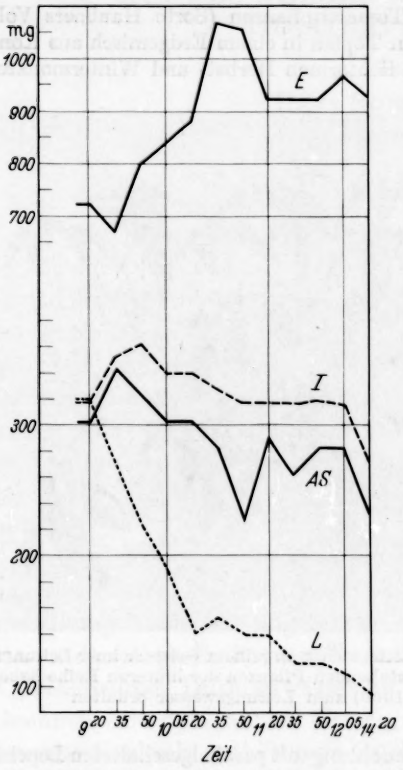


Abb. 2. Vergleichender Transpirationsversuch: *E* Evaporation, gemessen an einer freien Wasseroberfläche, *I* Transpiration intakter Pflanzen, *AS* Transpiration von AS-Pflanzen, *L* Transpiration von Ltw-Pflanzen

Tabelle 1. *Trockengewichtsprozente 45 min nach dem Einsetzen der Pflanzen in die Lösungen*

	Leitungswasser	Leitungswasser + Ascorbinsäure	Intakte Pflanzen
		Blätter	
	7,41	6,34	6,78
	7,55	7,47	7,46
	7,39	6,87	6,89
	8,41	7,68	7,89
	9,35	7,74	7,35
Mittel	8,05	7,22	7,27
		Sprosse	
	4,05	3,43	3,44
	3,99	3,41	3,70
	5,35	4,75	4,76
	3,72	3,65	3,55
	4,75	3,94	4,06
Mittel	4,37	3,84	3,90

Die Zahlen der Waagerechten stellen Mittelwerte von je 4 Versuchspflanzen einer Versuchsserie von 12 gleichalten Tomatenpflanzen dar. Die Mittelwerte der senkrechten Kolonnen beziehen sich auf fünf Versuchsserien mit je vier Pflanzen.

Die veränderten Wassergehalte der Versuchspflanzen spiegeln sich in den auf das Frischgewicht bezogenen Prozenten des Trockengewichts wieder (Tabelle 1). Die Trockengewichtsprozente der Ltw-Pflanzen steigen an, während die Werte der AS-Pflanzen sich mit denen bewurzelter Tomatenpflanzen auf gleicher Höhe halten oder sie leicht unterschreiten.

Bei den Transpirationsversuchen standen die abgeschnittenen Tomatenpflanzen in 250 ml Erlenmeyerkolben in den zu prüfenden Lösungen. Der Kolbenhals wurde gegen eine Verdunstung der Lösung durch einen 5 cm hohen, fest um den basalen Sproßteil gerollten Wattebausch abgedichtet. Durch Blindversuche

war sichergestellt worden, daß die durch einen derartigen Verschluß hinausdiffundierende Wasserdampfmenge gegenüber dem erzielten Transpirationsverlust vernachlässigt werden darf. Diese Verschlußart hat auch den Vorteil, daß man jederzeit die Pflanze zur Feststellung ihres Eigengewichtes herausnehmen und wieder zurücksetzen kann. — Bei der Transpirationsbestimmung eingetopfter Pflanzen kam der Topf in eine Polyäthylenhülle, die Abdichtung erfolgte wiederum mit einem Wattebausch, der durch eine Kordel um den Sproß herum festgezogen wurde. — Die Transpirations- und Frischgewichtswägungen wurden auf einer automatischen Mettlerwaage „K 7 T" vorgenommen. Alle Versuchsserien wurden wenigstens fünfmal wiederholt, die Einzelserie bestand meist aus 12 Pflanzen.

Die Befürchtung, schon das bloße Durchtrennen des Tomatensprosses führe zu unübersehbaren Störungen der Wasserzufuhr, wurde durch folgenden Versuch zerstreut: Läßt man eine Anzahl Tomatenpflanzen (12) transpirieren, ohne sie in Wasser zu stellen, so welken die Pflanzen je nach Lichtintensität und einwirkendem Dampfdruckdefizit spätestens in einer halben Stunde. Setzt man nach vollkommener Erschlaffung der Blätter die eine Hälfte der gewelkten Pflanzen in reines Leitungswasser (Ltw-Pflanzen), die andere Hälfte dagegen unter Zugabe von AS (n/1000) in Leitungswasser (AS-Pflanzen), so überwinden die Ltw-Pflanzen die Welkung erst nach mehreren Stunden, während die AS Pflanzen innerhalb kurzer Zeit (etwa 20 min) wieder voll turgeszent erscheinen. Der Versuch zeigt deutlich, daß selbst ein längeres Verweilen der Schnittfläche an der Luft und das damit verbundene Eindringen von Luft in einzelne Gefäße nach dem Einsetzen in eine Lösung die Wasseraufnahme der von uns benutzten Tomatensorte nicht wesentlich behindert.

Schlägt man bei der Versuchsanordnung den umgekehrten Weg ein und stellt zwei Tomatenpflanzen nach dem Abschneiden in Aqua bidest. und setzt der einen AS hinzu (n/2000), so bleiben beide Pflanzen trotz lebhafter Transpiration turgeszent. Nehmen wir nun die Pflanzen nach 45 min aus den Lösungen heraus und lassen sie an einem Stativ befestigt (Abb. 3) weiter transpirieren, so ist die zuvor mit Aqua bidest. versorgte Pflanze nach weiteren 30 min so welk, daß ihre Blattstiele schon schlaff herunterhängen (Abb. 4, *B*), während die aus der AS-Lösung stammende Pflanze (Abb. 4, *A*) ihre Turgeszenz nach 40 min zu verlieren beginnt.

Bei krautigen Pflanzen teilt sich jedes in den Blättern auftretende Wasserdefizit sogleich den Parenchymgeweben der Blattstiele und Sprosse mit. Sinkt also bei den Ltw-Pflanzen die über die Schnittfläche eingesaugte Flüssigkeitsmenge unter die im gleichen Zeitraum durch die Transpiration abgegebene Menge, so erfolgt eine Wasserentnahme aus den zuvor turgeszenten Parenchymen. Unsere im Gewächshaus angezogenen Tomatenpflanzen reagierten bei einem Wasserdefizit von 1,8—2% mit dem Beginn des sichtbaren Welkens. Ausgehend von den Spitzen der Fieder der jüngsten voll ausgebildeten Blätter setzt sich der

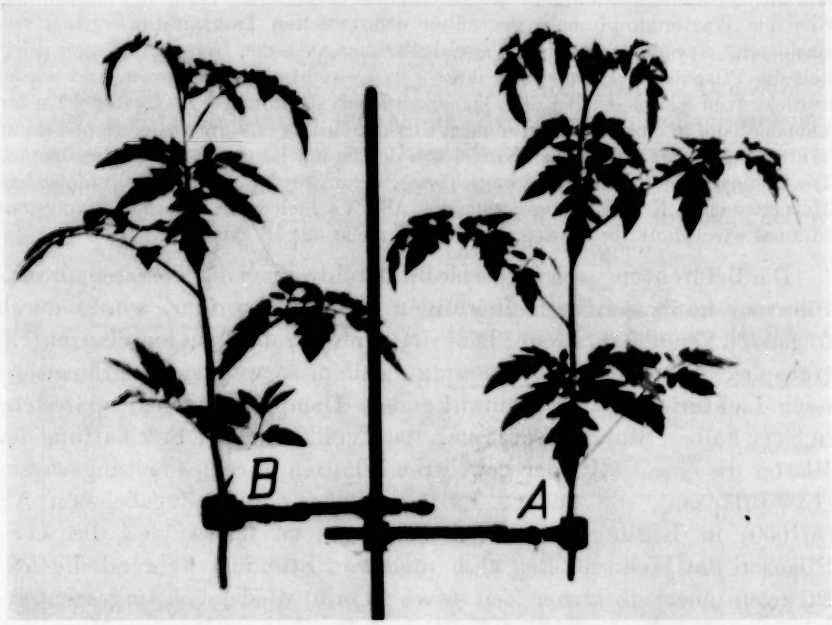


Abb. 3. Die Tomatenpflanze *A* hat 45 min in einer Ascorbinsäurelösung (n/2000), die Kontrolle *B* in Aqua bidest. gestanden. Beide sind beim Herausnehmen aus den Lösungen turgeszent

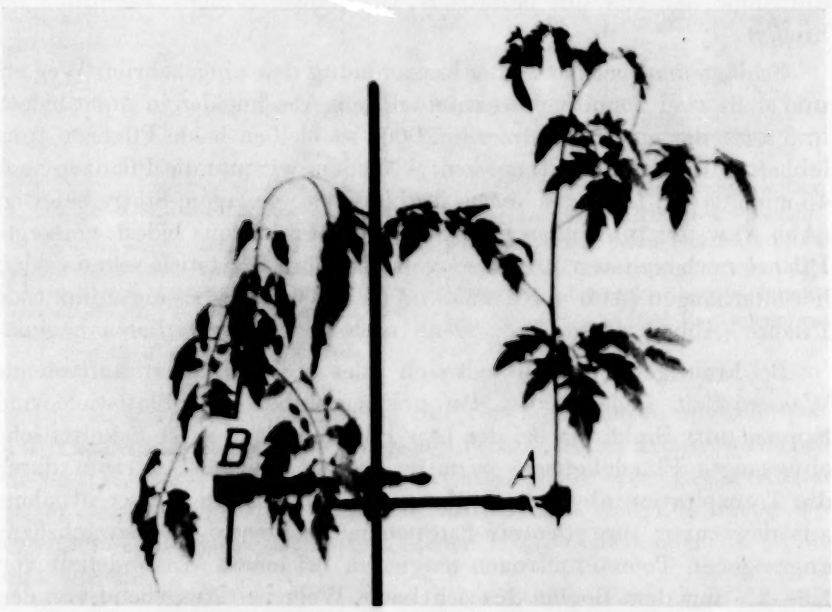


Abb. 4. 30 min nach dem Herausnehmen aus den Lösungen ist die AS-Pflanze (*A*) immer noch turgeszent, während die vorher mit Aqua bidest. versorgte vollkommen welk ist

Welkungsvorgang in den älteren Blättern basalwärts fort. Nach Erschlaffung der Blattspreiten greift der Prozeß auf die Blattstiele und schließlich auf die oberen Sproßinternodien über. Die Menge der Wasserentnahme aus den bei Versuchsbeginn turgeszenten Geweben kann als Ausdruck des Welkungsgrades der abgeschnittenen Pflanze gelten.

Die Ermittlung dieser Wasserentnahme wurde in der Weise durchgeführt, daß die Pflanzen unmittelbar nach dem Abschneiden bei Versuchsbeginn gewogen und danach erst mit ihren Sprossen in die Lösungen gestellt wurden und in diesem Zustand transpirierten. In bestimmten Intervallen (15 min) wurden die Pflanzen aus der Lösung herausgenommen, ihr unteres Sproßende mit Watte von anhaftendem Wasser befreit und die Pflanzen wiederum gewogen. Das Abtupfen des Wassers und die Einzelwägung nahmen 15—20 sec in Anspruch. Auf diese Weise konnte die Zu- oder Abnahme des anfänglichen Frischgewichts ermittelt werden. Dieses Verfahren ist nur deshalb möglich, weil, wie bereits erwähnt, die Schnittfläche einer Tomatenpflanze einige Zeit der Luft ausgesetzt werden kann, ohne daß die Blockierung einiger Gefäße durch eingesaugte Luft eine merkliche Erschwerung der Wasseraufnahme bewirkt. Die sekundären Gefäße der Tomate sind kurzgliederig, haben Anastomosen und sind untereinander und mit dem umgebenden Leitparenchym durch zahlreiche Tüpfel verbunden.

Es läßt sich auf diesem Wege leicht ermitteln, daß die über die Schnittfläche mit dem Leitungswasser zugeführte AS zuerst den Welkungsprozeß gegenüber den Ltw-Pflanzen erheblich verlangsamt und schließlich ganz aufhebt. Hierbei ist die Größe des jeweils herrschenden Dampfdruckdefizits der Luft von ausschlaggebender Bedeutung. Bei mittleren sommerlichen Evaporationswerten halten sich Transpirationsverlust und die über die Schnittfläche eingesaugte Flüssigkeitsmenge die Waage. Das Frischgewicht bleibt praktisch konstant. Kommt es zu einem vorübergehenden Wasserdefizit, so liegt es unter 2% des Frischgewichts und tritt äußerlich als Welken noch nicht in Erscheinung. Anders ist die Situation bei den in Leitungswasser ohne AS-Zusatz stehenden Ltw-Pflanzen. Bei ihnen tritt schon bald nach dem Einsetzen ein Wasserdefizit ein, ihr Transpirationsverlust bleibt stets größer als die im gleichen Zeitraum eingesaugte Flüssigkeitsmenge. Die Pflanze verliert ihre Turgeszenz und erschlafft (vgl. Abb. 1). Wenn wir das bei Versuchsende erreichte Wasserdefizit der Pflanze, das ja aus der Entnahme von Wasser aus den Geweben resultiert (Tabelle 2, Kol. 4), zur Gesamttranspiration in Beziehung setzen (Tabelle 2, Kol. 5), erhalten wir ein anschauliches Bild des in den einzelnen Lösungen erzielten Welkungsgrades und der durch die verschiedenen Zusätze zum Leitungswasser hervorgerufenen Verminderung der Wasserpermeabilität.

Tabelle 2. *Transpiration abgeschnittener Tomatenpflanzen in Leitungswasser (Ltw.) mit und ohne Zusatz organischer Säuren. Alle Zusätze* n/1000

1 Lösung	2 pH	3 Transpiration pro 200 cm²/3 Std g	4 Absoluter Gewichtsverlust der Gewebe g	5 Verlust der Transpiration %	6 Wasserdefizit der Frischgewichte %
Leitungswasser . . .	7,3	1,380	0,540	39,1	7,9
Ltw. + Ascorbinsäure	6,6	3,120	0,080	2,5	1,3
Ltw. + Citronensäure .	4,8	2,370	0,460	19,3	7,2
Ltw. + Oxalessigsäure	5,5	1,820	0,490	26,8	7,5

Durch das Abschneiden und das Einsetzen der Pflanze in das Leitungswasser findet für die Grenzschichten sämtlicher an die Gefäße grenzenden Parenchymzellen ein *Lösungswechsel* statt. Wenn auch der Blutungssaft einer Tomatenpflanze durch das Anschneiden sämtlicher im Sproßquerschnitt vorhandener Gewebe nicht mit dem Gefäßwasser der intakten, bewurzelten Pflanze gleichzusetzen ist, so dürfen wir, nach seiner Zusammensetzung zu schließen, ein Ca-armes Gefäßwasser in der unverletzten Pflanze annehmen. Der bei 20° C aufgefangene Blutungssaft unserer Versuchspflanzen ergab einen Gesamttrockenrückstand von 0,238%. Hiervon entfielen 17,2% auf organische Bestandteile und 82,8% auf Aschenbestandteile. In 100 mg Asche des Blutungssaftes sind enthalten:

K_2O	CaO	MgO
31,0	2,25	3,0

Auffallend an der Zusammensetzung des Blutungssaftes ist sein hoher Kaliumanteil. Die Relation Calcium — Kalium ist eindeutig zugunsten des Kaliums verschoben. Der p_H-Wert des Saftes liegt bei 6,6 (20° C). Durch das Einsaugen des Leitungswassers in die angeschnittenen Gefäße des Sprosses wird das an Kalium reiche natürliche Gefäßwasser durch ein hartes calciumreiches Wasser ersetzt. Da beim Abschneiden und Einsetzen in das Leitungswasser bzw. die Lösungen eine gewisse Zeit verstreicht, bis das zuvor in den Gefäßen enthaltene Wasser durch die nachdringende Außenflüssigkeit ersetzt wird, so muß sich auch das Wirksamwerden dieser Lösung bis zu diesem Zeitpunkt hinauszögern. Zur Ermittlung des Gefäßvolumens wurden bei mehreren Versuchspflanzen an Sproßquerschnitten die Flächen der Gefäßlumina in verschiedener Höhe planimetrisch bestimmt und aus den Mittelwerten das Volumen der Flüssigkeitssäule der Gefäße im Sproß errechnet. Das Gefäßvolumen bei den untersuchten Tomaten belief sich im Mittel auf 0,549 ml. Erst nach Verdunstung dieser Flüssigkeitsmenge ist mit einem völligen Ersatz des zuvor im Gefäß-System vorhanden gewesenen Wassers zu rechnen. Natürlich kann sich die Versuchslösung schon früher durch Veränderung

des Filtrationswiderstandes im Gefäß-System und in anderen an der Wasserleitung eventuell beteiligten Elementen auswirken.

Wenn der Einfluß der AS im wesentlichen auf ihre freien H-Ionen und deren Einwirkung auf den Quellungszustand der Plasmakolloide zurückzuführen ist, müßten wir ein gleiches Resultat auch mit anderen, stärker dissoziierten Säuren erwarten. Das ist jedoch nicht der Fall. Vergleichen wir das von abgeschnittenen Tomatenpflanzen nach Zusatz von anderen organischen Säuren jeweils erreichte Wasserdefizit, so zeigt sich, daß einige von ihnen das von reinem Leitungswasser bewirkte Defizit verringern. Aber keine der untersuchten Säuren reicht in ihrer Wirkung an die von AS heran (Tabelle 2). Wenn auch der Zusatz einer Säure das Welkwerden der Tomatenpflanzen im Leitungswasser nicht verhindern kann, so macht sich ihr Einfluß immerhin beim natürlichen Rückgang der Transpiration oder bei ihrer Ausschaltung durch künstliche Erhöhung der Luftfeuchtigkeit in einer schnelleren Erholung der Pflanzen vom Welken bemerkbar. AS-Pflanzen überschreiten hierbei ihr anfängliches Frischgewicht bis um 4%. Es ist überhaupt ein Vorteil des Arbeitens mit der ganzen abgeschnittenen Pflanze, daß neben der Wägung auch das visuelle Bild der Pflanze die sich in ihr abspielenden Welkungsvorgänge widerspiegelt. Die Reihenfolge, in der die untersuchten organischen Säuren eine Milderung der Härtewirkung des Leitungswassers hervorrufen, wird durch einen Ausgleich ihrer p_H-Werte mit entsprechend geringen Mengen NaOH nicht wesentlich verändert. Dieser Befund spricht dagegen, daß die H-Ionenkonzentration als solche der ausschlaggebende Faktor bei der Erleichterung der Wasserzufuhr ist. Besser ließe sich die Wirkung der organischen Säuren verstehen, wenn wir ihre Neigung zur *Chelatbildung* mit mehrwertigen Kationen in Betracht ziehen könnten (vgl. MARTELL-CALVIN 1958). In Tabelle 3 sind die Chelat-Stabilitätskonstanten der untersuchten Säuren zusammengestellt.

Tabelle 3
Chelat-Stabilitätskonstanten (log K)

Chelatbilder	Metall	
	Ca	Mg
Bernsteinsäure .	1,2	—
Apfelsäure . . .	1,8	1,55
Weinsäure . . .	1,8	1,36
Oxalessigsäure .	1,8	—
Malonsäure . . .	2,5	2,8
Oxalsäure . . .	3,0	3,4
Citronensäure . .	3,2	3,2
Ascorbinsäure[1] .	0,19	—

[1] Nach SCHUBERT u. LINDEMANN (1952).

Die Chelatbildung bei den Alkali- und Erdalkalimetallen geschieht unter vorwiegender Ionenbindung. Die Chelat-Stabilitätskonstante der organischen Säuren drückt ihre Affinität gegenüber zweiwertigen Kationen aus. — Die Chelat-Stabilitätskonstante der AS gegenüber den Ca-Ionen ist aber so gering ($\log K = 0{,}19$), daß bedenklich erscheinen mag, die Chelatbildung der AS als Erklärung für ihre stabilisierende Wirkung auf die Wasserbilanz abgeschnittener Tomatenpflanzen im

Leitungswasser heranzuziehen. Der Verlauf des Rückgangs des Welkens einer in Leitungswasser stehenden Tomatenpflanze nach dem Zusatz von AS zum Wasser vollzieht sich aber in so kurzer Zeit, daß die Annahme gerechtfertigt erscheint, daß wir es hier dennoch mit einer Chelat- oder anderen Komplexverbindung zwischen der AS und den zweiwertigen Kationen des Leitungswassers zu tun haben müssen. Möglicherweise vollzieht sich die Chelatbildung an den Plasmagrenzschichten der Leitparenchyme in ganz anderer Weise, wie in einer reinen Ca-Lösung (vgl. einen ähnlich gelagerten Fall in der Humanmedizin S. 151). — Die Reihenfolge der Stabilitätskonstanten der übrigen untersuchten Säuren deckt sich mit der durch diese Säuren bei Tomatenpflanzen erzielten Herabminderung des Wasserdefizits, das durch Geisenheimer Leitungswasser an ihnen hervorgerufen wird. Je höher also die Chelat-Stabilitätskonstante einer dieser Säuren gegenüber den im Leitungswasser hauptsächlich wirksamen Kationen Ca und Mg liegt, desto leichter wird sie das Leitungswasser für die abgeschnittenen Pflanzen physiologisch enthärten. Nach ihrem an Tomaten erreichten Wirkungsgrad geordnet ergibt sich für die untersuchten Säuren folgende steigende Reihe: Bernsteinsäure < Weinsäure < Apfelsäure < Oxalessigsäure < Malonsäure < Citronensäure < Ascorbinsäure.

Auf einige Säuren des Krebscyclus wurde deshalb zurückgegriffen, weil mit der Möglichkeit eines Einflusses der AS auf den Atmungsstoffwechsel der Tomaten von vornherein zu rechnen war, und es interessieren mußte, die Wirkung der in der Atmungskette auftretenden Zwischenprodukte gegenüber der Chelatbildung kennen zu lernen.

Andererseits hat ein so viel benutzter Chelatbildner wie EDTA (Äthylendiamintetraessigsäure) keine herabsetzende Wirkung auf das Welken abgeschnittener Tomatenpflanzen in Leitungswasser aufzuweisen. Ja der Welkungsvorgang verstärkte sich nach seinem Zusatz zum Leitungswasser noch erheblich. Hierbei verloren die Blattstiele und Sprosse der Tomatenpflanzen ihre Turgeszenz früher als die Blattspreiten. Die Transpirationswerte sanken noch unter diejenigen der Ltw-Pflanzen herab (vgl. S. 152).

Potometer-Versuche

Das Ausmaß der Beeinflussung des Welkens der Tomatenpflanzen durch den Zusatz verschiedener organischer Säuren im Leitungswasser konnte nur in Serienversuchen durch die oben beschriebenen vergleichenden Transpirationsversuche und durch Bestimmung des jeweils in ihnen erreichten Sättigungsdefizits eindeutig nachgewiesen werden. Der zeitliche Verlauf von Transpiration und Wasseraufnahme läßt sich jedoch an Einzelpflanzen noch sinnfälliger darstellen, wenn man Potometer und automatische Waage kombiniert, und dadurch gleichzeitig Wasserabgabe und Aufnahme der Pflanze registrieren kann.

Zu den Versuchen kamen Potometer aus Jenaer Geräteglas zur Verwendung, bei denen die in 1/100 ml geteilte Capillare und das Versorgungsgefäß durch Glasschliffe mit dem T-förmigen Potometergefäß verbunden waren. Der Tomatensproß wurde durch einen durchbohrten Gummistopfen in das Potometer eingeführt. Die Potometer waren in einer leichten, in einen Holzfuß eingelassenen Bürettenklammer befestigt und kamen damit auf die Mettler-Waage. Durch die gleichzeitige Verwendung eines Vergleichspotometers, bei dem an Stelle der Pflanze ein Glasstab in den Gummistopfen eingesetzt worden war, konnten durch Temperaturschwankungen hervorgerufene Ablesungsfehler korrigiert werden. Es erwies sich aber, daß bei der Größe der durch die Transpiration verursachten Einsaugung die durch geringe Temperaturschwankungen hervorgerufenen Volumfehler das Versuchsergebnis kaum stören.

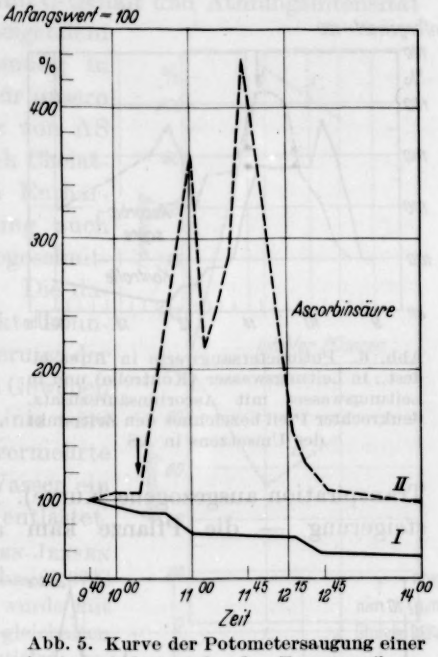


Abb. 5. Kurve der Potometersaugung einer in Aqua bidest. stehenden Tomatenpflanze (*I*), Kurve der Potometersaugwerte in einer Ascorbinlösung (*II*) (Zeitpunkt des Umsetzens aus Aqua bidest. in AS-Lösung durch senkrechten Pfeil markiert)

Betrachten wir zuerst die Wirkung der in Aqua bidest. gelösten AS auf die Wasseraufnahme einer abgeschnittenen Tomatenpflanze, also in ungepuffertem Medium. Von zwei bereits in Aqua bidest. stehenden Pflanzen wurde die eine als Versuchspflanze um 10 Uhr in eine n/1000 AS-Lösung (p_H 3,4) eingestellt (Abb. 5, Kurve II), während die andere als Kontrollpflanze weiterhin in Aqua bidest. verblieb (Abb. 5, Kurve I). Unmittelbar nach dem Einbringen zeigt die Versuchspflanze ein Hinaufschnellen ihrer Potometer-Saugwerte. Dem ersten steilen Anstieg folgt ein Rückgang der Potometerwerte, dem um 11 Uhr ein zweiter noch steilerer Anstieg folgt. Diese zweite Zacke der Kurve fällt zeitlich mit einer durch die AS ausgelösten Atmungssteigerung zusammen (vgl. S. 149). Auf diese Beobachtung wird nach Besprechung der Atmungsversuche noch einmal zurückgekommen werden.

Ein Auswechseln des Aqua bidest. gegen das harte Leitungswasser hat erwartungsgemäß einen starken Rückgang der Saugwerte (Abb. 6, Kontrollpflanze) zur Folge. Die Einsaugung sinkt wesentlich unter die Transpirationswerte, die Pflanze welkt. — Der Kurvenverlauf der AS-Pflanze weist nur vorübergehend eine Depression der Saugung nach dem Übertragen in das Leitungswasser auf; ähnlich wie in der reinen AS-Lösung (Abb. 5) folgt nach 40 min ein, wenn auch schwächerer Anstieg

der Werte für die Einsaugung. Der Kurvenverlauf eines kombinierten Waage-Potometerversuchs (Abb. 7) weist von dem Zeitpunkt der Übertragung der Pflanze in das Leitungswasser (9,50 Uhr) eine negative Wasserbilanz auf (Wasseraufnahme gestrichelte,

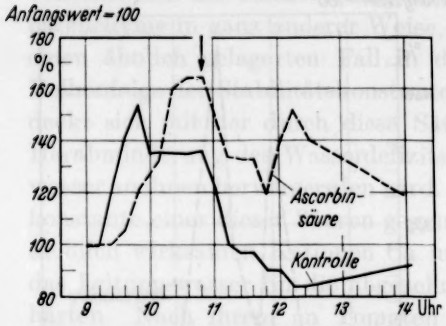


Abb. 6. Potometersaugwerte in Aqua bidest., in Leitungswasser (Kontrolle) und in Leitungswasser mit Ascorbinsäurezusatz. Senkrechter Pfeil bezeichnet den Zeitpunkt des Umsetzens in AS

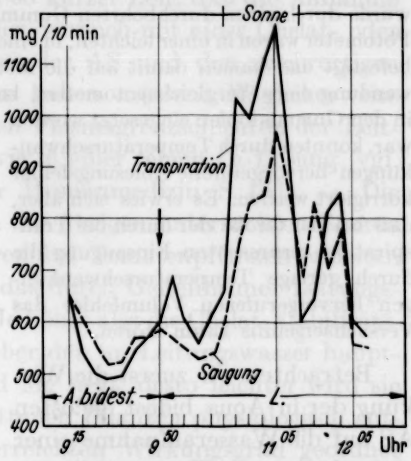


Abb. 7. Kombinierter Waagen-Potometerversuch. Pflanze zuerst in *A. bidest.*, dann in Leitungswasser (*L*). Zeitpunkt des Lösungswechsels durch senkrechten Pfeil bezeichnet

Transpiration ausgezogene Kurve). Nach einer starken Transpirationssteigerung — die Pflanze kam an ein Südfenster in die Sonne und welkte — erbringt ein Zurückversetzen der Pflanze in diffuses Tageslicht einen Transpirationsabfall, während ein gleichgroßer Abfall bei den Werten für die Saugung ausbleibt. Die erschwerte Wasserzufuhr macht sich in einer Nachsaugung bemerkbar. Ein Zusatz von AS zum Leitungswasser (Abb. 8) läßt die Wasserbilanz nach dem Lösungswechsel lange Zeit (10,42—11,55 Uhr) ausgeglichen erscheinen. Erst eine direkte Besonnung hat auch hier wieder ein Zurückbleiben der Wasseraufnahme hinter den Transpirationswerten zur Folge. Die Pflanze bleibt

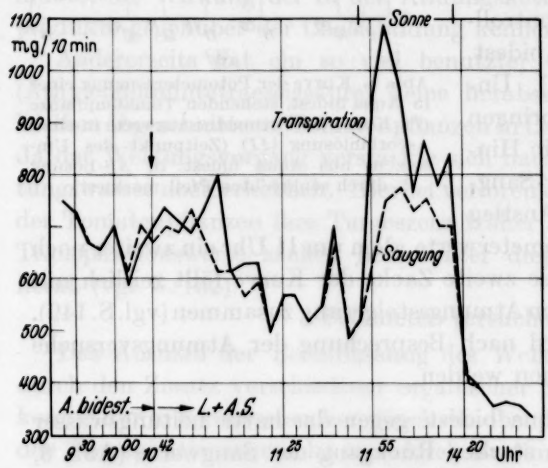


Abb. 8. Kombinierter Waagen-Potometerversuch. Pflanze zuerst in Aqua bidest., danach in Leitungswasser + Ascorbinsäure. Zeitpunkt des Lösungswechsels durch senkrechten Pfeil markiert

aber turgeszent, und die Transpiration und Saugung spielen sich ohne Verzug ein.

Vergleichende Atmungsversuche an Tomatenblättern

Durch die Untersuchungen von SMITH (1952) und FRANCKE (1954) wurde bekannt, daß zwischen Vitamin C-Gehalt und Atmungsintensität eine Korrelation besteht. Mit steigendem Vitamin C-Gehalt nimmt die Atmung in der Zelle zu. Es drängt sich daher für unsern Fall die Frage auf, ob der Zusatz von AS zum Leitungswasser neben der durch Chelatbildung erreichten physiologischen Enthärtung nicht als weitere Veränderung auch eine Erhöhung der *Atmung* der abgeschnittenen Tomatenpflanzen verursacht. Die dabei freigesetzten Stoffwechselprodukte könnten dann eine wesentliche Veränderung der plasmatischen Wasserbindung in den Geweben zur Folge haben. Erst in zweiter Linie wäre zu erwägen, ob das durch eine vermehrte Atmung im Plasma freiwerdende Wasser ein eventuelles Wasserdefizit meßbar entlastet.

Die Atmung wurde nach BOYSSEN-JENSEN (1928, 1932) bei Temperaturkonstanz von 21,0° C bestimmt. Jede der Atmungskammern wurde mit neun bis zehn locker geschichteten, gleichalten Tomatenblättern mit gekürzten Blattstielen beschickt. Es kamen nur voll ausgewachsene 5. bis 7. Folgeblätter der Pflanzen zur Verwendung. Das Frischgewicht jeder Quote betrug 3,5—3,8 g. Bei Versuchsende wurde das Frisch- und Trockengewicht sowie planimetrisch die Blattoberfläche bestimmt. In Parallelversuchen wurden die Blätter intakter Pflanzen mit solchen abgeschnittener Pflanzen verglichen, die vor Versuchsbeginn 30 bzw. 90 min in Ltw oder Ltw + AS gestanden hatten. Atmungsdauer in der Kammer 30 min.

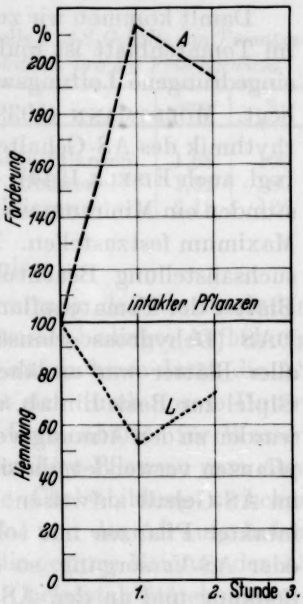


Abb. 9. Vergleichender Atmungsversuch an Tomatenblättern. Die Atmung der intakten Pflanze = 100 % gesetzt. *A* Blätter von AS-Pflanzen, *L* Blätter von Leitungswasser-Pflanzen, die zuvor 45 min in den jeweiligen Lösungen gestanden hatten. (10 g Frischgewicht der Blätter intakter Pflanzen gaben 7,9 mg CO_2/Std ab)

Das Ergebnis der gleichsinnig verlaufenen Meßreihen ist für einen Versuch in Abb. 9 dargestellt. Verglichen mit der Atmung intakter Pflanzen (= 100%) sinkt die Atmung bei den Ltw-Pflanzen (Abb. 9, Kurve *L*) in der ersten Stunde auf 53%, während die der Ltw + AS-Pflanzen (Abb. 9, Kurve *A*) eine Steigerung ihrer Atmung auf 214% aufzuweisen haben. — In der darauffolgenden Stunde erholen sich die Atmungswerte der Ltw-Pflanzen, und die der AS-Pflanzen gehen etwas zurück. — Die Erhöhung der Atmung in den Blättern der AS-Pflanzen tritt aber erst zu dem Zeitpunkt ein, wenn nach dem Einsetzen der

Sprosse in die Lösung der erreichte Transpirationsverlust dem Volumen des Gefäßwassers von Sproß und Blattstiel entspricht und die AS in das Blattgewebe eintritt. Aus diesem zeitlichen Zusammenhang erklärt sich die Zweigipfeligkeit der Kurven für die Wasseraufnahme in unseren Potometerversuchen. — Die Atmungssteigerung im Sproß konnte aus technischen Gründen nicht nachgewiesen werden, es ist aber damit zu rechnen, daß sie sehr viel früher einsetzt als im Blatt.

Damit kommen wir zu der Frage, wie hoch der natürliche AS-Spiegel im Tomatenblatt ist und in welchem Ausmaß er durch das von außen eingedrungene Leitungswasser mit und ohne AS-Veränderungen unterliegt. MOLDTMANN (1939) hat an verschiedenen Pflanzen eine Tagesrhythmik des AS-Gehaltes in Abhängigkeit von der Witterung gefunden (vgl. auch EISELE 1944). Auch bei der Tomate ist in den frühen Morgenstunden ein Minimum und in den frühen Nachmittagsstunden ein flaches Maximum festzustellen. Noch eine andere Tatsache fordert bei der Versuchsanstellung Beachtung. Bei guter Wasserversorgung wiesen die Blätter der Tomatenpflanzen je nach ihrem Alter verschiedene AS- und DAS (Dehydroascorbinsäure)-Mengen auf. Der Gesamtvitamingehalt aller Blätter war annähernd gleich, doch nimmt der AS-Gehalt vom Gipfel zur Basis hin ab, der der DAS dagegen zu. Aus diesem Grunde wurden zu den Atmungsversuchen nur 5. bis 7. Folgeblätter der Versuchspflanzen verwendet, da sie untereinander nur geringfügige Unterschiede im AS-Gehalt aufweisen. Vergleichen wir den AS-Spiegel von Blättern intakter Pflanzen mit solchen von abgeschnittenen Pflanzen bei Ltw- oder AS-Versorgung, so stellen wir an den Ltw-Pflanzen eine geringe Senkung und an den AS-Pflanzen eine Steigerung fest. — Hierbei sei vermerkt, daß eine mit Leitungswasser angesetzte AS-Lösung denselben Titer aufzuweisen hat, wie eine mit Aqua bidest. bereitete. — Die von außen mit dem Leitungswasser zugeführten AS-Mengen sind geringer als die im Blatt normalerweise vorhandenen. Das wesentliche Moment der Wirksamkeit künstlicher AS-Zufuhr dürfte darin zu erblicken sein, daß diese AS-Mengen an den plasmatischen Grenzschichten der Leitparenchymscheiden frei zur Verfügung stehen. Der Quotient AS:DAS wird durch die Zuführung der AS über die Gefäßbahnen zugunsten der AS verschoben (vgl. FRANCKE 1957).

Bei den Ltw- und AS-Pflanzen wurden die Blätter 45 min nach dem Einsetzen in die Lösung entnommen[1].

Hat die erhöhte Atmung eine meßbare Veränderung in den osmotischen Verhältnissen der Gewebe zur Folge, und läßt sich hieraus das beobachtete Ansteigen des Wassergehaltes über seinen Wert im bei Versuchsbeginn konstatierten Frischgewicht hinaus erklären? Orientierende

[1] Die Bestimmung der AS wurde nach der Methode von STROHECKER, HEIMANN und MATT (s. MERCK 1960) ausgeführt.

plasmolytische Bestimmungen an Längsschnitten der Blattstiele der Tomatenpflanzen lassen keine eindeutig feststellbare Veränderung des grenzplasmolytischen Wertes (0,34 mol Rohrzucker) erkennen. Die AS-Pflanzen zeigen auch hierbei ein gleiches Verhalten, wie die intakten. Bei beiden Gruppen trat „Krampfplasmolyse" ein, während die Ltw-Pflanzen eine abgerundete „Kappenplasmolyse" aufwiesen. Dieser letzte Befund ließe sich im Sinne Stockers (1948) als anfängliche Herabsetzung der Viscosität bei Eintritt des Welkens deuten. Dem widerspricht jedoch der hohe Filtrationswiderstand der Leitparenchyme für Wasser und das durch ihn in den Geweben hervorgerufene Wasserdefizit (vgl. Tabelle 2) der Ltw-Pflanzen.

Tabelle 4. *AS-Gehalte von Tomatenblättern pro 5 g Frischgewicht*

	mg	%
Intakte Pflanzen	1,68	100
Ltw-Pflanzen . .	1,32	80
AS-Pflanzen . .	2,18	165

Besprechung der Ergebnisse

Die in der Einleitung ausgesprochene Vermutung, daß die durch den Zusatz von Ascorbinsäure (AS) zum Leitungswasser bedingte Aufhebung des Welkens der Tomatenpflanzen ursächlich auf mehrere durch die AS ausgelöste Reaktionen zurückzuführen ist, hat sich durch unsere Untersuchungen bestätigt. Die Herabsetzung der Permeabilität für Wasser, wie sie in der fortschreitenden Unterbilanz der Ltw-Pflanzen zum Ausdruck kommt, dürfte zum Teil durch eine Chelatbildung zwischen Metallionen des Leitungswassers (vor allem Ca) und der AS aufgehoben werden. Dieser Annahme widerspricht zwar die geringe Neigung der AS in reinen Calciumlösungen Chelate zu bilden (Chelatstabilitätskonstante $\log K = 0{,}19$). Aber in der Humanmedizin weiß man seit den Untersuchungen von Rieben (1947), daß die AS die *Calciumwirkung* bei der Gerinnung des Blutes wahrscheinlich über eine Chelatbildung vollkommen aufheben kann. Deshalb erscheint es erlaubt, der AS bei der physiologischen Enthärtung des carbonatreichen Wassers eine ähnliche Rolle zuzuschreiben. Die Wasserversorgung der abgeschnittenen AS-Pflanzen kommt nach dem Einsetzen in die Lösungen anfangs der der bewurzelten fast gleich; nachdem die Erhöhung des AS-Spiegels in den Geweben eingetreten ist, steigt der Wassergehalt der AS-Pflanzen sogar gegenüber dem anfänglichen Frischgewicht beim Abschneiden bis um 4% an. Unter den Eigenschaften der AS als Chelatbildner hat in der botanischen Literatur, soviel mir bekannt ist, nur die gegenüber Schwermetallen[1] (Cu II) Erwähnung gefunden. In sehr viel bescheidenerem Ausmaß als die AS vermögen auch andere organische Säuren (z. B. einige aus

[1] „Das Kupfer-Ion bildet mit dem Ascorbat-Ion ein Chelat, das durch Elektronenverschiebung zum Metall eine semichinoide Struktur annimmt." Martell u. Calvin (1958).

dem Krebscyclus) eine gewisse physiologische Enthärtung des Leitungswassers zu veranlassen. Sie alle besitzen, wenn auch in verschiedenem Grade die Fähigkeit mit den Erdalkalien und Alkalimetallen Chelate zu bilden (vgl. MARTELL u. CALVIN 1958).

Das von uns angewandte Verfahren, das Frischgewicht einer turgeszenten Pflanze unmittelbar nach dem Abschneiden als Ausgangspunkt für weitere Wägungen zu wählen und seine Zu- oder Abnahme in Abhängigkeit von verschiedenen organischen Säuren im Leitungswasser bei gleichzeitiger Transpirationsbestimmung zu ermitteln, gibt ein anschauliches Bild von der in den Lösungen erzielten Wasserbilanz. Das Ausmaß, in dem eine Säure die permeabilitätshemmende Wirkung des Leitungswassers überwinden hilft, entspricht ihrer Stellung in der ansteigenden Reihe der Chelatstabilitätskonstanten. Eine Ausnahme macht die AS. — Bezüglich des Versagens des starken Chelatbildners Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA) muß darauf hingewiesen werden, daß diese Verbindung als AS-Stabilisator bekannt ist, der die Cu-bedingte Oxydation der AS unterbindet. — Die physiologisch ungünstige Wirkung der Ca- und Mg-Ionen auf die Wasserpermeabilität der plasmatischen Grenzschichten der Leitparenchyme, die in der Unterbilanz der Ltw-Pflanzen deutlich zutage tritt, wird durch die Chelatbildung aufgehoben. Hinzu kommt, daß die Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen in der Chelatbindung gegenüber den frei gelösten Ionen stark herabgesetzt ist (MARTELL u. CALVIN 1958). Unsere Versuchsergebnisse über die Wirkung der Chelatbildung einiger organischer Säuren auf die Aufnahme harten Wassers geben einen Hinweis auf die Rolle, die organische Säuren im Gefäßwasser den mitgeführten mehrwertigen Kationen gegenüber spielen können[1].

Neben der Chelatbildung muß auch die Möglichkeit einer Beeinflussung der Wasserpermeabilität durch die H-Ionenkonzentration berücksichtigt werden. In dem carbonatreichen Geisenheimer Leitungswasser mit guter Pufferung kommt die schwache Dissoziation der AS nicht zur Geltung. Obwohl die zum Vergleich der AS herangezogenen Säuren sämtlich stärker dissoziert sind als die AS, erreicht keine von ihnen deren Wirksamkeit bei der Verhinderung des Welkens der Tomatenpflanzen. Eine Einstellung der verschiedenen Lösungen auf den p_H-Wert des Leitungswassers durch NaOH hatte keine Veränderung in der Reihenfolge der Wirksamkeit der Säuren zur Folge. Schon GUTTEBERG u. MEINL (1952) kamen bei ihren Untersuchungen über den Einfluß von

[1] Ein Zusatz von 3-4-5-Trijodbenzoesäure, die nur in sehr geringen Mengen in Wasser löslich ist, zum Leitungswasser gestattet der Tomatenpflanze eine Wasserbilanz, die etwas höher ist als bei Zusatz von Citronensäure. — Dieser unerwartete Befund hat seine Parallele in den Ergebnissen von KESSLER u. MOSCICKI (1958), die eine Aufnahme von Ca_{45} über die Blattoberfläche nur nach Zusatz von TIBA erzielen konnten.

Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas mittels der Bestimmung der Deplasmolysezeit zu dem Ergebnis (S. 441): „Auch die zerstörende und in 10^{-8} fördernde Wirkung der Ascorbinsäure ist nicht p_H-bedingt, sondern spezifisch."

Die von uns verwendeten AS-Konzentrationen mußten deshalb höher gewählt werden, weil bei unserer Versuchsanordnung die AS vornehmlich durch die Schnittfläche über das Gefäßsystem in die Pflanze gelangt. Die eingesaugte Flüssigkeitsmenge ist aber von der Transpirationsleistung weitgehend abhängig. Bei einer durchschnittlich erreichten Transpirationsleistung von 1,00 g/Std werden bei n/500 352 γ und bei n/1000 176 γ AS von einer Versuchspflanze von etwa 10 g Frischgewicht aufgenommen. Auch bei noch höheren AS-Konzentrationen trat keine sichtbare Schädigung der Tomaten ein, die Wasserbilanz der Pflanzen verbesserte sich sogar mit steigender Konzentration der AS im Leitungswasser. Die Auswechselung des Gefäßwassers gegen das nachgesaugte Leitungswasser führt auch zu einer Beeinflussung weiterer Prozesse im Stoffwechsel der Pflanze. Die *Atmung* von Blättern der Ltw-Pflanzen zeigt gegenüber derjenigen intakter Pflanzen eine Senkung. Hierbei bleibt es ungeklärt, welche der im Leitungswasser enthaltenen Ionen dabei ausschlaggebend sind und welche fermentativen (?) Teilprozesse durch sie gestört werden. — Der Zusatz von *Ascorbinsäure* zum Leitungswasser macht die sonst auftretende Depression nicht nur wett, sondern verdoppelt die Atmungswerte sogar gegenüber denen der intakten Pflanzen. Smith (1952) und Francke (1954, 1957) haben die Wechselwirkung zwischen autonomer Erhöhung des AS-Spiegels und Atmungszunahme beschrieben. Bei Francke (1954) findet sich folgende Bemerkung: „Die Übereinstimmung von Atmungs- und Vitamin C-Gehalt wirft die Frage auf, was Ursache und was Wirkung ist?" Da unter unseren Bedingungen die von außen zugeführte AS eine Steigerung der Atmung im Blatt zur Folge hat, dürfte der Anstoß von der AS ausgehen und eine eventuelle Glykolysezunahme würde erst ein sekundäres Glied in der Kette der ausgelösten Reaktion sein.

Der augenfällige Befund, daß ein Zusatz von AS zum Leitungswasser das Welken der abgeschnittenen Tomatenpflanzen verhindert, deutet auf einen ursächlichen Zusammenhang mit jenen Stoffwechselvorgängen hin, wie sie durch die Untersuchungen von Eisele (1944) an Salat- und Haferpflanzen unter der Einwirkung von Dürrezuständen im Boden bekannt geworden sind (vgl. Stocker 1948, 1956). In der Reaktionsphase eines Dürrereizes, also mit Beginn der Dürreperiode, trat in den Blättern der Versuchspflanzen ein beachtlicher Anstieg der Gesamtmenge der im Blatt vorhandenen AS auf. Außerdem zeigten Trockenpflanzen ein eindeutiges Maximum am Mittag, das bei den Feuchtpflanzen nicht zu beobachten war. Die bei den Trockenpflanzen eintretende Entquellung

führt nach EISELE zu einer Intensivierung der Dissimilationsvorgänge im Blatt. Die hierbei zu erwartende Zunahme der kleinmolekularen Zucker hat den Anstieg des AS-Spiegels im Gefolge. Möglicherweise liegen die Verhältnisse bei der von MONTFORT und HAHN (1951) an *Syringa vulgaris* und *Caltha palustris* als Nachwirkung abgestufter Entquellung beobachteten Atmungssteigerung auf derselben Linie.

Der während einer Dürreperiode von Pflanzen selbst bewirkte Anstieg des AS-Spiegels im Gewebe ist ein beachtenswertes Faktum; es gewinnt durch unsere Versuche, bei denen die AS von außen zugeführt, das Welken schlagartig überwinden hilft, eine neue Bedeutung. Neben ihrer Rolle als starker Redoxkörper scheint die Ascorbinsäure noch eine andere, nicht weniger wichtige Aufgabe, *die Regulation der Wasserpermeabilität* zu erfüllen.

Zusammenfassung

1. Werden abgeschnittene Tomatenpflanzen von ihrer Schnittfläche her mit hartem Leitungswasser versorgt, so treten alsbald Welkungserscheinungen auf. Diese lassen sich durch einen Zusatz von *Ascorbinsäure* (AS) zum dargebotenen Wasser aufheben.

2. Die Ascorbinsäure greift hierbei wahrscheinlich auf dem Wege über eine *Chelatbildung* mit den mehrwertigen Ionen des Wassers und durch ihre Einwirkung auf den *Atmungs*-Stoffwechsel fördernd in die Wasserversorgung der Tomatenpflanzen ein.

3. Abgeschnittene Tomatenpflanzen zeigen bei Versorgung mit Geisenheimer Leitungswasser außer einer starken Unterbilanz ihrer Wasserversorgung gleichzeitig auch eine Depression der *Atmung*.

4. Wird abgeschnittenen Tomatenpflanzen mit dem Leitungswasser AS geboten, so tritt in den Blättern eine *Atmungssteigerung* um 100% gegenüber gleichalten Blättern bewurzelter Pflanzen auf.

5. Osmotisch geringfügige Konzentrationen einiger organischer Säuren vermögen hartes Leitungswasser in der Reihenfolge ihrer Chelatstabilitätskonstanten physiologisch zu enthärten. Nach ihrem Wirkungsgrad geordnet ergibt sich für die untersuchten Säuren folgende Reihe: Bernsteinsäure < Weinsäure < Apfelsäure < Oxalessigsäure < Malonsäure < Citronensäure < Ascorbinsäure.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für ihre fortlaufende Unterstützung meiner Arbeiten. — Die Atmungsapparatur wurde mir freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. K. EGLE, Botanisches Institut der Universität Frankfurt, zur Verfügung gestellt. Die Durchführung der Atmungsversuche wurde in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. C. J. SOEDER und Frau BRIGITTE SOEDER ausgeführt. Bei meinen Arbeiten wurde ich von Frl. JUTTA ALBRECHT in bewährter Weise unterstützt. Ihnen allen sei herzlich für ihre Mithilfe gedankt.

Literatur

Bode, H. R.: Beiträge zur Kenntnis allelopathischer Erscheinungen bei einigen Juglandaceen. Planta (Berl.) **51**, 440—480 (1958).

Boysen-Jensen, P.: Über neue Apparate zur Messung der Kohlensäureassimilation, Respiration, der Öffnungsweite der Spaltöffnungen und der Beleuchtungsstärke. Planta (Berl.) **6**, 456—472 (1928).

— Die Stoffproduktion der Pflanzen. Jena: Gustav Fischer 1932.

Eisele, G.: Gehalt und Oxydationszustand der Ascorbinsäure in einigen Kulturpflanzen. Diss. Darmstadt 1944.

Francke, W.: Über die Biosynthese des Vitamin C. I. Mitt. Die Beziehungen zwischen Vitamin C und Atmung. Planta (Berl.) **44**, 437—458 (1957).

— Der Vitamingehalt von Pflanzen in Abhängigkeit von der Temperatur. Planta (Berl.) **49**, 349—388 (1957).

— Phenoloxydasen und Ascorbinsäureoxydase. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. XII/1, S. 401—455. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

Guttenberg, H. v., u. G. Meinl: Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Planta (Berl.) **40**, 431—442 (1952).

Kessler, B., and Z. W. Moscicki: Effect of trijodbenzoic acid and maleic hydrazide upon the transport of foliar applied Calcium and Iron. Plant Physiol. **33**, 70—72 (1958).

Martell, A. E., u. M. Calvin: Die Chemie der Metallchelatverbindungen, übersetzt v. H. Specker, Weinheim, Bergstr.: Verlag Chemie 1958.

Merck, E., A.G.: Vitaminanalyse. Darmstadt: Selbstverlag 1960.

Moldtmann, H.: Untersuchungen über den Ascorbingehalt von Pflanzen in seiner Abhängigkeit von inneren und äußeren Faktoren. Planta (Berl.) **30**, 297—342 (1939).

Montfort, C., u. H. Hahn: Atmung und Assimilation als dynamische Kennzeichen bei Farnen und höheren Pflanzen. Planta (Berl.) **38**, 503—515 (1951).

Rieben, W. K.: Quantitative Plasmathrombinstudien. II. Über einige neue blutgerinnungshemmende Stoffe. Schweiz. med. Wschr. **1946**, 913.

Schubert, J., and A. Lindenbaum: Stability of alkaline earth-organic acid complexes measured by ion exschange. J. Amer. chem. Soc. **74**, 3529 (1952).

Smith, F. G.: Ascorbic acid formation in potato-tuber slices. Plant Physiol. **27**, 736—744 (1952).

Stocker, O.: Beiträge zu einer Theorie der Dürreresistenz. Planta (Berl.) **35**, 445—466 (1948).

— Die Dürreresistenz. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. III, S. 696—734. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.

Dr. H. R. Bode,
Geisenheim a. Rh., Lehr- und Forschungsanstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau,
Abt.: Experimentelle Soziologie der Kulturpflanzen

Planta 57, 156—175 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Marburg

ÜBER VERÄNDERUNGEN DER PLASMATISCHEN FEINSTRUKTUREN WÄHREND DES WELKENS

Von

EBERHARD SCHNEPF*

Mit 17 Textabbildungen

(Eingegangen am 23. Mai 1961)

I. Einleitung

Bei Untersuchungen an Drüsen von *Drosophyllum* hat sich gezeigt, daß zwischen der Ausscheidung des Fangschleimes und der Struktur der Golgi-Elemente enge Beziehungen bestehen (SCHNEPF 1961 a und b). Die Intensität der Sekretion und die Bildung von Golgi-Vesikeln hängt von verschiedenen Faktoren ab, unter anderem von einer ausreichenden Wasserversorgung. Wassermangel beeinflußt aber nicht nur die Golgi-Strukturen, sondern wirkt sich, wie nicht anders zu erwarten ist, auf den Bau aller Plasmakomponenten aus.

Da bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen an *Drosophyllum*-Drüsen von welkenden Blättern einige überraschende Beobachtungen gemacht wurden, sollte an einem weiteren Objekt geprüft werden, ob diese Effekte allgemeiner verbreitet sind. Ich wählte hierzu Wurzelspitzen der Erbse, *Pisum sativum*, weil in ihnen ganz andere Zelltypen vorkommen und die Feinstruktur der normalen Zellen durch SITTE (1958) ausführlich beschrieben wurde.

Es gibt zahlreiche Angaben über die Zusammenhänge zwischen dem Wassergehalt und den Zustandsgrößen des Protoplasten (Literatur bei STOCKER 1956 und LEVITT 1958) sowie seiner stoffwechselphysiologischen Aktivität (s. bei MOTHES 1956). Eigenartigerweise sind jedoch lichtmikroskopische Beobachtungen über seinen Bau in welkenden Organen nur selten beschrieben. Elektronenmikroskopische Untersuchungen fehlen völlig.

Einige Befunde über die Feinstruktur plasmolysierter Zellen werden kurz bei MERCER (1960) erwähnt.

Die umfangreiche Literatur über die „Dürreresistenz" (Zusammenfassungen bei STOCKER 1956 und LEVITT 1958) zeigt, daß die Effekte bei der Austrocknung sehr vom Objekt und von den Versuchsbedingungen abhängig sind. Die Befunde sind daher oft sehr uneinheitlich. Sie werden teilweise auch recht verschieden interpretiert. Feinstrukturuntersuchungen an welkenden Pflanzen könnten einen Beitrag zu dieser

* Herrn Prof. Dr. W. SCHUMACHER zum 60. Geburtstag gewidmet.

Diskussion liefern. Sie könnten ferner dazu helfen, den Bau des „normalen" Protoplasten besser zu verstehen, weil sich erst unter extremen Bedingungen die Variationsmöglichkeit der lebendigen Struktur offenbart.

II. Material und Methode

Die Erbsenwurzeln stammten von zehn Tage alten, in Sägespänen herangezogenen Pflanzen. Sie wurden abgetrennt und 1 Std offen im Laboratorium auf trockenes Filtrierpapier gelegt. Dabei verminderte sich das Frischgewicht um 40%.

Für die Welkeversuche bei *Drosophyllum* wurden Blätter kräftiger Gewächshauspflanzen abgeschnitten und $1^3/_4$—3 Std trocken in Zimmerluft aufgestellt. Teilweise stellte ich die Gewichtsabnahme durch Wägung der ganzen Blätter vor und nach dem Welken fest. Diese Bestimmung gibt aber nur wenig brauchbare Werte für die Austrocknung der einzelnen Drüsenzellen, weil die Transpiration der Drüsen offenbar nicht mit der des übrigen Blattes übereinstimmt. Sie ist vermutlich viel intensiver. Es bestehen weiterhin auch große Unterschiede zwischen den einzelnen Drüsen, teilweise sicherlich abhängig von der Exposition. Der Gewichtsverlust betrug bei 3 Std Welken 37%.

Als Fixierungsmittel für die Blattstückchen von *Drosophyllum* bzw. für unzerschnittene, 5 mm lange Spitzen von Haupt- und Seitenwurzeln 1. Grades der Erbse diente das Osmiumtetroxyd-Bichromat-Gemisch nach Wohlfarth-Bottermann (1957), p_H 7,5, als Einbettungsmittel Vestopal. Die Einzelheiten der Präparation sind in den vorausgegangenen Arbeiten (vor allem Schnepf 1960) beschrieben.

Zum Vergleich wurden immer ungewelkte Objekte mitfixiert, in einem Falle *(Drosophyllum)* auch nach vorherigem, dreistündigem Welken wieder frisch gewordene Blätter (3 Std in Wasser).

Für die Untersuchungen stand ein Siemens „Elmiskop II" zur Verfügung.

Eingehendere Beobachtungen habe ich bei den Erbsenwurzeln an den jüngsten Zellen des Rindenmeristems und an Rindenzellen aus der Zone des Streckungswachstums (etwa 2,5—4 mm von der Spitze entfernt), bei *Drosophyllum* an den Drüsenzellen der gestielten und sitzenden Drüsen angestellt, gelegentlich aber auch andere Gewebe damit verglichen.

Von den gewelkten Wurzeln bzw. Blättern wurden einige nicht fixiert, sondern in Wasser gelegt, um zu sehen, ob sie wieder turgescent werden. Das gelang in jedem Versuch. Die Objekte waren demnach zur Zeit der Fixierung wahrscheinlich nicht abgestorben, sie können allerdings geschädigt sein. Tazaki (1960) fand, daß die Wiedererlangung der Turgescenz kein einwandfreies Kriterium zur Bestimmung des letalen Wasserdefizites ist.

III. Ergebnisse

1. Pisum, Wurzeln, Rindenmeristem

Die Ultrastruktur der normalen Wurzelmeristemzellen ist von Sitte (1958) eingehend dargestellt. Ein allgemeiner Eindruck über den Einfluß, den ein einstündiges Austrocknen in der Laboratoriumsluft (Frischgewichtsverlust: 40%) auf ihren Feinbau ausübt, ergibt sich aus dem Vergleich von Abb. 1 und 2.

Die frisch fixierten Wurzeln besitzen gerade oder nur leicht wellige Zellwände. Letztes ist auf die Präparation zurückzuführen. In den gewelkten Objekten sind sie dagegen häufig stärker faltig. Der

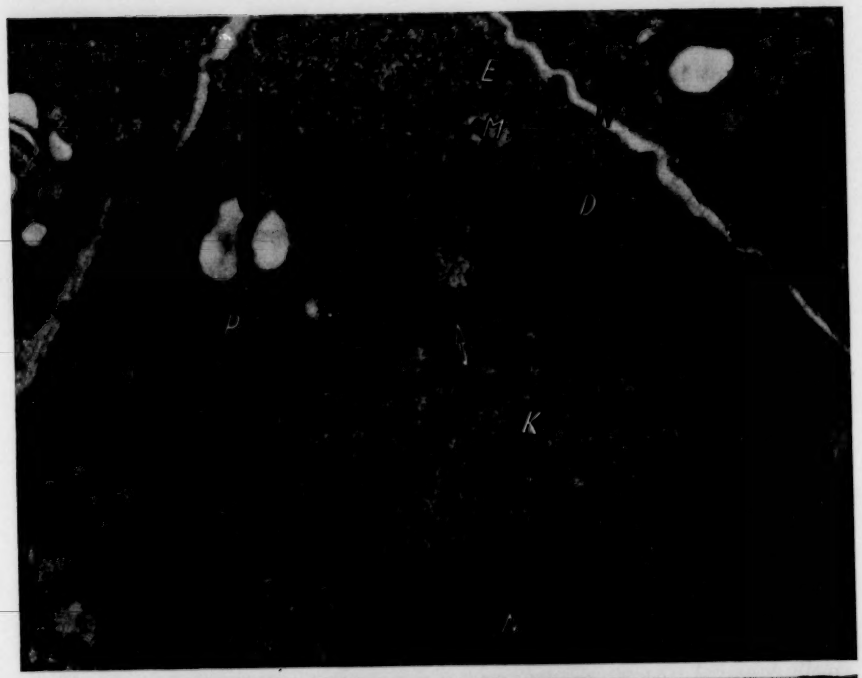


Abb. 1 u. 2. (Legenden auf gegenüberliegender Seite)

Protoplast, der normalerweise der Wand dicht anliegt, schrumpft durch den Wasserverlust und löst sich dabei teilweise von der Membran ab. Hierdurch kann das Plasmalemma zerreißen (Abb. 2, links unten). In der Regel kann man es jedoch deutlich als dunkle Begrenzungslinie erkennen. Mitunter kommt es vor, daß sich die Plasmagrenzschicht in enge, verworrene Falten legt (Abb. 2, links oben).

Der Zellkern der Kontrollen (Abb. 1) besitzt eine Membran aus zwei osmiophilen Lamellen, die durch den Perinuclear-Raum voneinander getrennt sind. Sie ist vereinzelt von Poren durchbrochen. Der Nucleolus nimmt einen großen Teil des Kernvolumens ein und hebt sich deutlich vom Karyoplasma ab. Dieses bietet einen fein flockigen Aspekt, wobei dichtere und lockerere Partien einander durchsetzen.

In den gewelkten Wurzeln verliert die Zweischichtigkeit der Kernmembran an Deutlichkeit. Häufig scheinen beide Lamellen miteinander verklebt zu sein (Abb. 2). Der perinucleare Raum zwischen ihnen ist nur noch teilweise zu erkennen. Die Kernporen sind dagegen klarer als in den unbeeinflußten Kernen. Es hat den Anschein, daß sich auch ihre Zahl vermehrt (Abb. 5).

Im Gegensatz zu den Vermutungen SITTES (1958) sind die Poren der Kerne aus gewelkten wie frischen Wurzeln stets offen und nicht durch eine einfache Membran verschlossen. Vom selben Autor wurde beschrieben, daß der Porenrand mit „Meiosomen" [= Ribonucleoprotein-(RNP-)Granula] besetzt ist, d.h., daß ein „Annulus" gebildet wird. Das konnte nicht sicher nachgewiesen werden (vgl. DRAWERT und MIX 1961).

Mitunter löst sich die Kernmembran in den gewelkten Wurzeln lokal völlig auf. An ihrer Stelle befindet sich eine stark osmiophile Masse von homogener bis schaumiger Struktur (Abb. 6).

Das Karyoplasma reagiert sehr unterschiedlich. Der Nucleolus kann nur noch selten sicher identifiziert werden (vgl. WEBER 1926). Häufig findet man entlang der Kernmembran eine etwa. 0,3—0,5 μ breite, homogen grau erscheinende Zone. Inseln einer Substanz ähnlicher Struktur und Schwärzung kommen auch weiter im Kerninneren vor, zusammen mit einem sehr hellen, fein flockigen, und einem dunkleren, ebenfalls flockigen Material (Abb. 2). Diese drei Komponenten können

Abb. 1. *Pisum*, Wurzel frisch, Zelle aus dem Rindenmeristem. *K* Zellkern, *N* Nucleolus, bei → Pore in der Kernmembran, *W* Zellwand, *M* Mitochondrien, *P* Proplastide mit Stärkekörnern, *E* Zisterne des endoplasmatischen Reticulums, *D* Dictyosom, schräg geschnitten. Elt. opt. 7500 ×, Endvergr. 17500 ×

Abb. 2. *Pisum*, Wurzel 1 Std gewelkt, Zelle aus dem Rindenmeristem. Bezeichnungen wie Abb. 1. Plasma stark geschrumpft und teilweise von den Wänden abgelöst. Bei × Entmischungen der plasmatischen Lamellen bzw. myelinartige Bildungen. Oben ein großer Myelin-Komplex. Im Kern hellere und dunklere Bezirke, an der Kernmembran und in einzelnen Inseln im Inneren eine ziemlich homogene, graue Substanz. Elt. opt. 7500 ×, Endvergr. 17500 ×

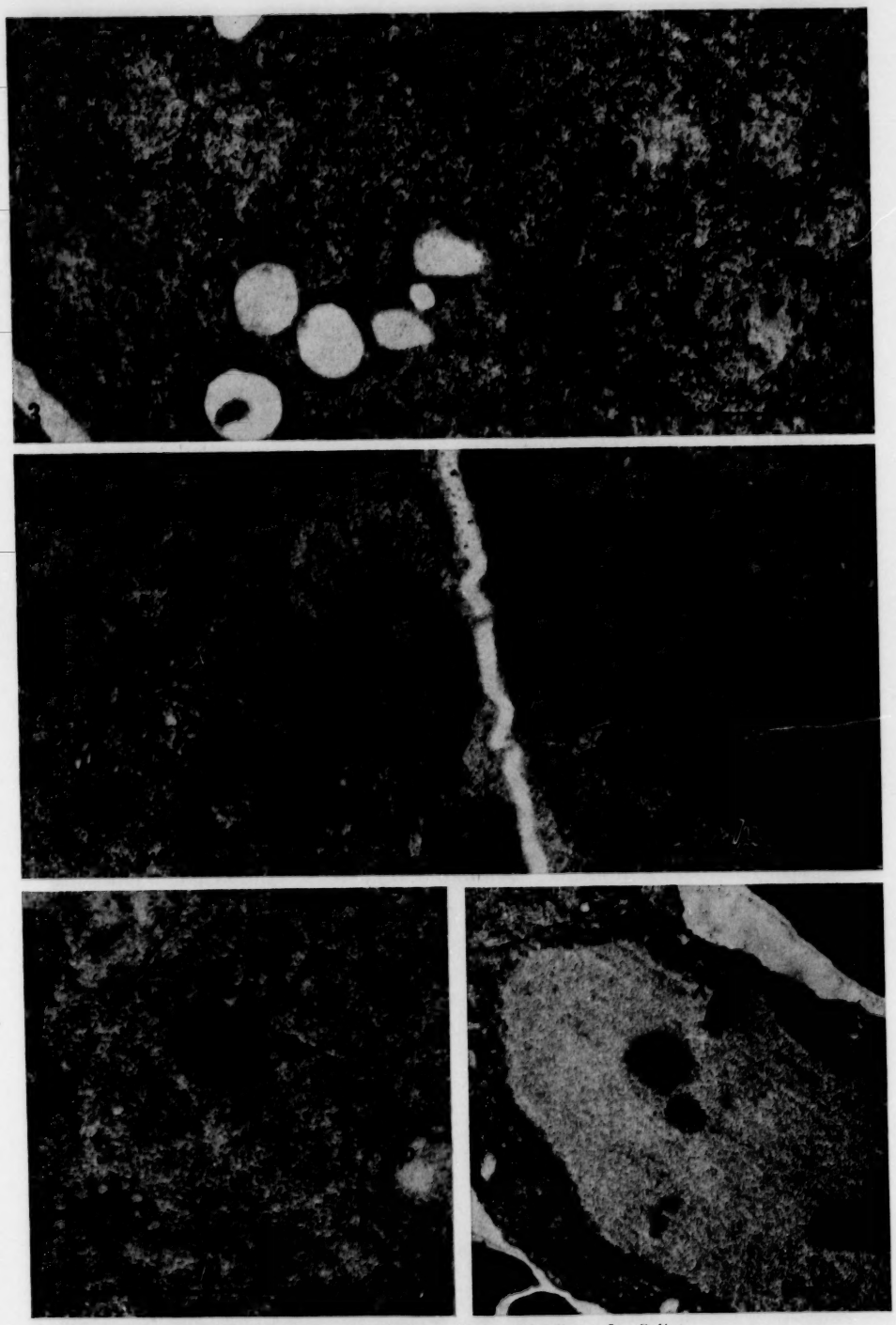


Abb. 3—6. (Legenden auf gegenüberliegender Seite)

sehr verschieden große Bezirke einnehmen. Es gibt Wurzeln, bei denen der „hellgraue Stoff" in allen Kernen bei weitem überwiegt (Abb. 6), in den meisten Fällen tritt er aber nur in kleineren Inseln auf (Abb. 2).

Lichtmikroskopisch konnten nach Karminessigsäure-Färbungen entsprechende Beobachtungen gemacht werden.

Offenbar handelt es sich um pyknotische Kerndegenerationen. Ähnliche Mißbildungen erhielt KOMURO (unter anderem 1928) in Zellen aus Wurzelspitzen von *Pisum sativum* und *Vicia faba*, die durch Röntgenstrahlen oder Behandlungen mit Kohlenteerlösungen geschädigt waren. Der Kern in Abb. 2 könnte etwa dem Stadium der „tiefgefärbten, körnigen Hyperchromatose", der in Abb. 6 einem „Radkern mit Kernwand-Hyperchromatose" der Terminologie von KOMURO entsprechen. Auch dieser Autor stellte die außerordentliche Variabilität des mikroskopischen Bildes der degenerierenden Kerne fest (KOMURO 1924).

Sehr auffällig sind die Veränderungen an den Mitochondrien. Sie erscheinen in den frischen Wurzeln stark aufgelockert (Abb. 1, 3). Ihre Außenmembran ist deutlich dreischichtig. Durch den Wasserverlust vor der Fixierung schrumpfen sie stark (Abb. 2, 4). Eine planimetrische Bestimmung von je 250 Mitochondrienanschnitten bei frischen und gewelkten Wurzeln ergab für die ersten eine durchschnittliche Fläche von 0,87 μ^2 je Mitochondrium, für die zweiten 0,21 μ^2, also eine Schrumpfung auf $^1/_4$. Da es sich um Messungen an zufällig getroffenen Mitochondrien handelt und sich ihre Form bei der Austrocknung nicht ändert, kann man annehmen, daß das Volumen auf etwa $^1/_{16}$ des normalen zurückgegangen ist. Das Quellen und Entquellen bei der Fixierung, Entwässerung und Einbettung beeinflußt vermutlich beide Proben etwa gleich. Es fällt daher wohl nicht sehr ins Gewicht.

Die Mitochondrien sind, wie die Kerne, in den gewelkten Wurzeln nicht gleichmäßig stark verändert. In den meisten Zellen sind die doppelten Hüllen und die „Sacculi", zumindest teilweise, noch zu sehen (Abb. 4). In den sehr stark geschrumpften erscheint häufig das Innere fast homogen dunkelgrau und die Innenstrukturen sind nicht mehr sicher zu identifizieren. Die Membran läßt ihren Aufbau aus zwei Lamellen dann häufig ebenfalls nicht mehr erkennen. An manchen Stellen, besonders dort, wo sich Mitochondrien untereinander oder mit Plastiden

Abb. 3. *Pisum*, Wurzel frisch, Zelle aus dem Rindenmeristem. *M* Mitochondrien, *P* Proplastide, *D* Dictyosomen. Elt. opt. 7500 ×, Endvergr. 30000 ×

Abb. 4. *Pisum*, Wurzel 1 Std gewelkt, Zelle aus dem Rindenmeristem. Bezeichnungen wie bei Abb. 3. Bei × Entmischungen der plasmatischen Lamellen. Elt. opt. 7500 ×, Endvergr. 30000 ×

Abb. 5. *Pisum*, Wurzel 1 Std gewelkt, Zelle aus dem Rindenmeristem. Bezeichnungen wie bei Abb. 3. Links unten Kernmembran flach geschnitten, Poren in Aufsicht, rechts unten (→) Poren quer. Elt. opt. 7500 ×, Endvergr. 30000 ×

Abb. 6. *Pisum*, Wurzel 1 Std gewelkt, Zelle aus dem Rindenmeristem. Stark degenerierter Zellkern („Radkern mit Kernwandhyperchromatose"). Entmischungen an der Kernmembran (×). Elt. opt. 7500 ×, Endvergr. 10000 ×

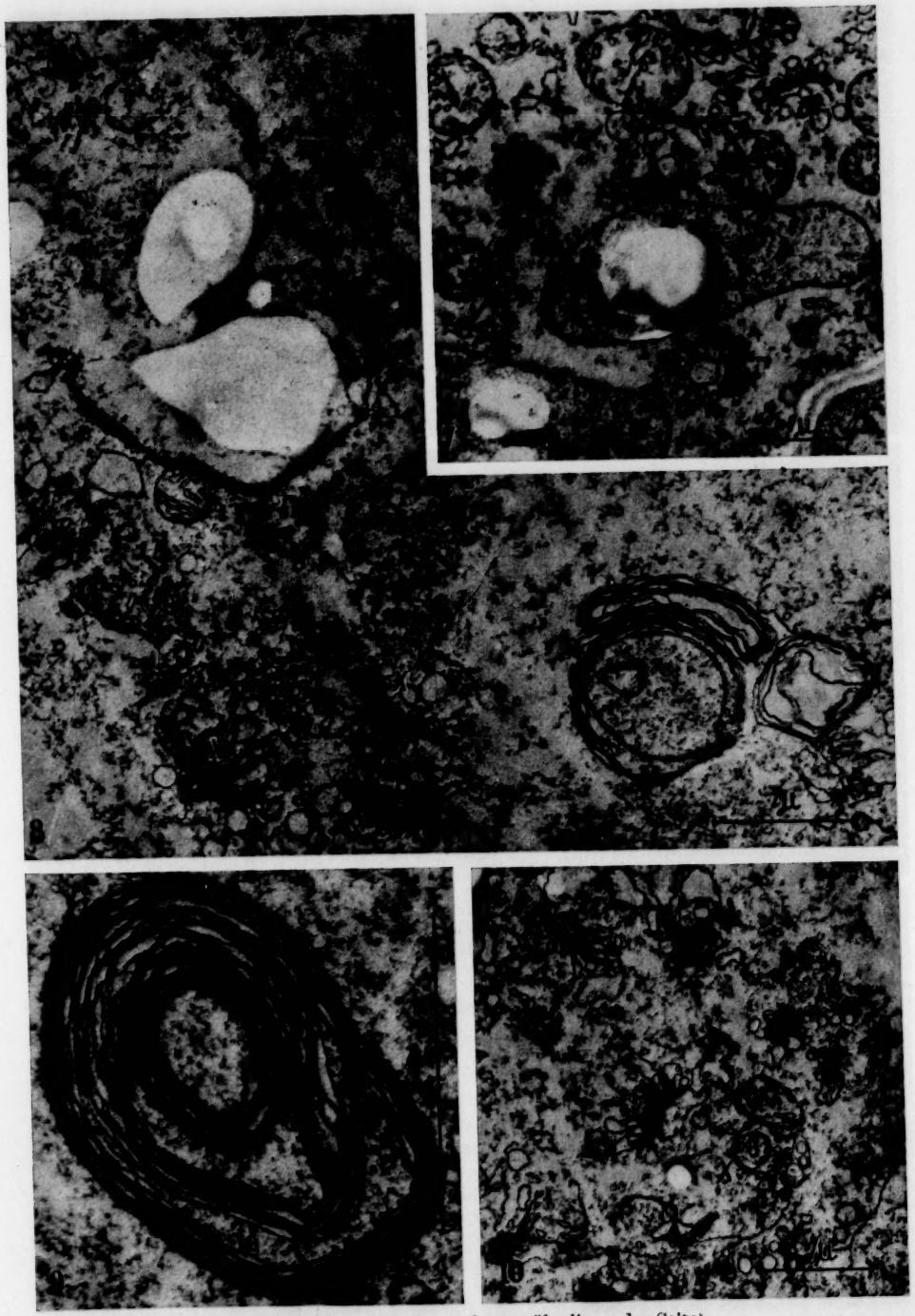


Abb. 7—10. (Legenden auf gegenüberliegender Seite)

berühren, ist sie wie die Kernhülle in eine osmiophile, unregelmäßige Masse umgewandelt (Abb. 2).

Die Proplastiden schrumpfen nicht so stark wie die Mitochondrien, obwohl auch sie deutlich an Größe verlieren. Ein Stärkeabbau, der von einer Reihe von Autoren als Welkeeffekt beschrieben wurde (Übersicht bei MOTHES 1956 mit elf Zitaten), konnte nicht festgestellt werden. Auch die wenigen Innenstrukturen der Proplastiden (vereinzelte Lamellen und Bläschen, Lipoidtropfen, Haufen stark osmiophiler, sehr kleiner Granula) werden nur wenig verändert. Nur die Lamellen und die Plastidenmembran entmischen sich mitunter (Abb. 2, 4).

Diese Membranzerstörungen treten besonders häufig an den Dictyosomen auf. In den frischen Wurzeln (Abb. 3) bestehen diese aus deutlich getrennten Golgi-Zisternen (Fusionen, SITTE 1958, konnten nicht sicher beobachtet werden). Am Rande dieser Zisternen werden kleine Golgi-Vesikel abgeschnürt. Ähnliche Vesikel findet man auch frei im Plasma. Sie enthalten mitunter eine schwach kontrastierte Substanz.

In den gewelkten Wurzeln (Abb. 2, 4) ist der Bläscheninhalt stets sehr kontrastarm. Sie schrumpfen offenbar nicht, sondern vergrößern sich eher etwas und kommen nur noch in der unmittelbaren Nähe der Dictyosomen vor. Die Golgi-Zisternen sind meist mehr oder weniger stark miteinander verschmolzen. Manchmal sind nur noch die terminalen Teile der Zisternen und die Golgi-Vesikel frei. In extremen Fällen lösen sich auch die letzten Lamellenreste auf (Abb. 2). Der aus ihnen entstandene Körper ist so osmiophil wie die „Lipoidtropfen" aus Zellen frischer Wurzeln. Teilweise erscheint er wie diese völlig homogen, meistens ist er aber durch Bläschen aufgelockert und hat dadurch eine schaumige Struktur.

Diese Gebilde erreichen mitunter beträchtliche Größen, vermutlich durch die Verschmelzung mehrerer kleiner Körper. Häufig stehen sie dann mit myelinartigen Membranknäulen in Verbindung (Abb. 2). Ähnliche Lamellendegenerationen können bei allen Zellkomponenten auftreten, auch bei den in diesen Zellen meistens nur spärlich vorkommenden Zisternen des endoplasmatischen Reticulums. Offenbar neigen die Dictyosomen besonders dazu.

Abb. 7. *Pisum*, Wurzel frisch, Rindenzelle aus der Streckungszone. *P* Proplastide mit Stärke, *M* Mitochondrium, *D* Dictyosom. Elt. opt. 7500 ×, Endvergr. 15000 ×

Abb. 8. *Pisum*, Wurzel 1 Std gewelkt, Rindenzelle aus der Streckungszone. Membran der Proplastide geplatzt, die Reste zeigen Entmischungserscheinungen. Entmischungen auch an den Dictyosomen (×), Golgi-Vesikel vergrößert. Mitochondrien teilweise geplatzt (→). Rechts unten Myelinfigur. Elt. opt. 7500 ×, Endvergr. 20000 ×

Abb. 9. *Pisum*, Wurzel 1 Std gewelkt, Rindenzelle aus der Streckungszone. Myelinfigur. Elt. opt. 15000 ×, Endvergr. 45000 ×

Abb. 10. *Pisum*, Wurzel 1 Std gewelkt, Rindenzelle aus der Streckungszone. Mehrere geplatzte Mitochondrien. Entmischungen an der Mitochondrienmembran (×) und an den Dictyosomen. Elt. opt. 7500 ×, Endvergr. 15000 ×

Es ist schwierig zu entscheiden, wie sehr die in den Meristemzellen nicht häufig auftretenden Vacuolen beim Welken Größe und Form verändern, weil beides stark von Zelle zu Zelle schwanken kann. Sie scheinen, wie nicht anders zu erwarten, durch den Wasserentzug kleiner zu werden.

Durch das Schrumpfen aller Komponenten und durch das Zusammenrücken der RNP-Partikel im „Grundplasma" ist der Protoplast in gewelkten Wurzeln wesentlich dichter (vgl. Abb. 3 und 4). Die Kontrastunterschiede zwischen den einzelnen Strukturen werden dadurch geringer. Da zudem noch viele Lamellen mehr oder weniger degenerieren, machen die elektronenmikroskopischen Aufnahmen dieser Zellen häufig einen verwaschenen Eindruck.

2. Pisum, Wurzelrinde, Zone des Streckungswachstums

Verglichen mit den Zellen aus dem Meristem zeichnen sich die aus der Zone des Streckungswachstums durch eine oder mehrere große Vacuolen und eine stärkere Hydratisierung von Kern, Mitochondrien, Plastiden, endoplasmatischem Reticulum, Dictyosomen und „Grundplasma" aus (vgl. Abb. 1 mit 7). Die Golgi-Vesikel sind größer als in den jungen Zellen. Die granuläre Komponente, die im Meristem das Bild des Grundplasmas bestimmt, geht während der Differenzierung stark zurück. Dafür tritt die vesiculäre stärker hervor (vgl. auch LUND, VATTER und HANSON 1957, SETTERFIELD 1961, SCHNEPF 1961a).

Bei den nach dem Welken fixierten Wurzeln finden sich in dieser Zone einige Veränderungen, die denen in den Meristemzellen ähnlich sind. Das trifft vor allem auf die Zerstörung der Lamellen zu. Hier reagieren die Golgi-Zisternen ebenfalls am empfindlichsten (Abb. 8, 10). Die Golgi-Vesikel vergrößern sich bei der Degeneration der Dictyosomen (vgl. Abb. 7 mit Abb. 8 und 10). Aber auch die Plastidenmembranen, in geringerem Maße die der Mitochondrien und Kerne, sind nicht selten in osmiophile, schaumige Komplexe umgewandelt (Abb. 8, 10). In ihrer unmittelbaren Nähe treten die schon bei den Meristemzellen erwähnten Membranknäule besonders zahlreich auf. Die Lamellen in ihnen sind teilweise recht regelmäßig konzentrisch geordnet (Abb. 8, 9). Es kommen aber auch ganz wirre Strukturen vor (Abb. 11).

Die Plastiden und Mitochondrien sind häufig geplatzt (Abb. 8, 10). In den Photographien von frischen Wurzeln findet man das nur selten, hier sind es sicher artifizielle Bildungen.

Die Zerstörungen am Plasmalemma und am Tonoplast sind wahrscheinlich durch die Präparation verursacht, sie treten ebenfalls in den Kontrollen auf.

Die chromatische Substanz der Zellkerne ist in ihrer Struktur fast unverändert.

Die Schrumpfungen, beim Welken der Meristemzellen die auffälligsten Veränderungen, sind hier recht gering. Die durchschnittliche

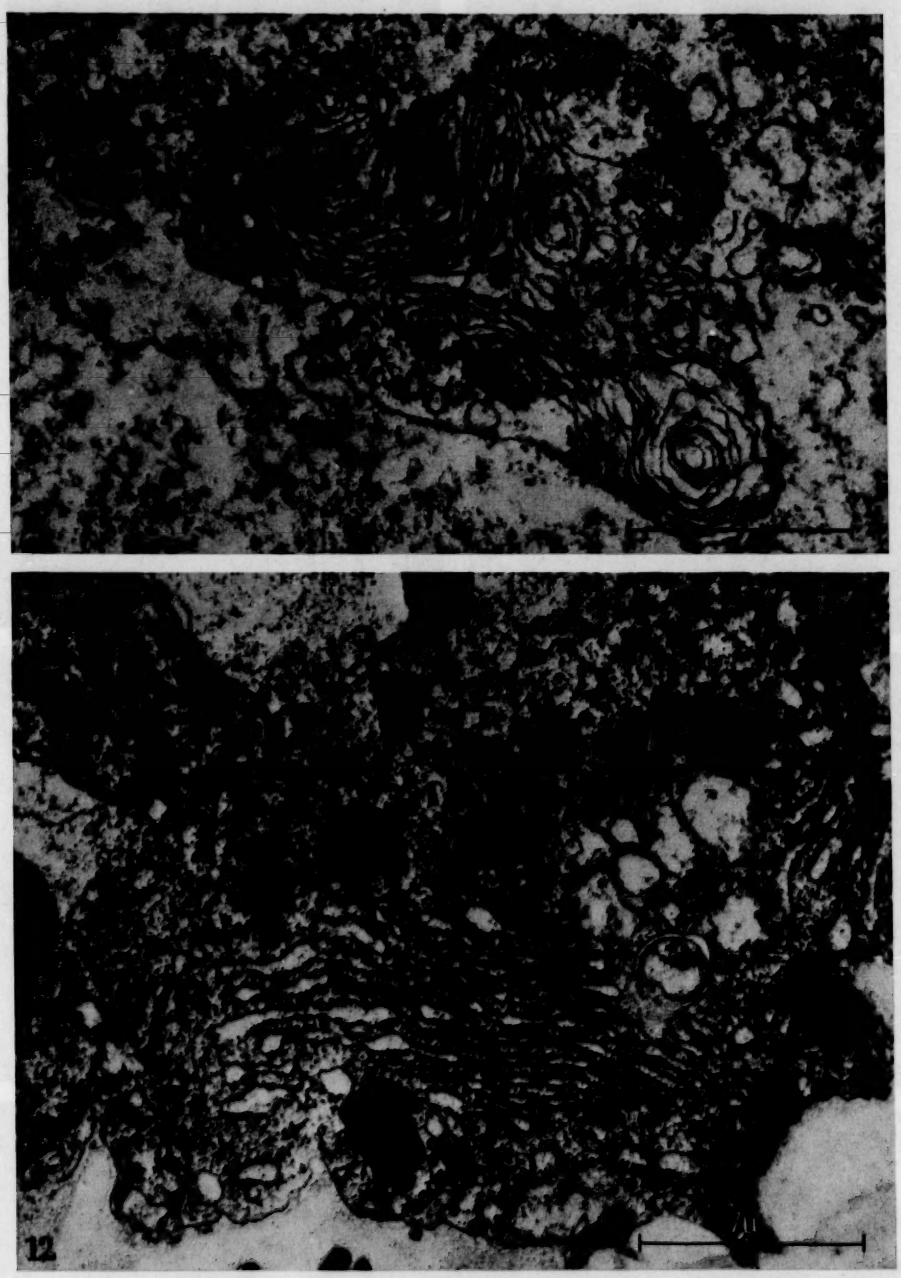


Abb. 11. *Pisum*, Wurzel 1 Std gewelkt, Rindenzelle aus der Streckungszone. Membranknäuel und mehrere Komplexe degenerierter Lamellen, wohl von Dictyosomen und Mitochondrien. Elt. opt. 7500 ×, Endvergr. 30000 ×

Abb. 12. *Drosophyllum*, gestielte Drüse, äußere Drüsenzelle, $1^3/_4$ Std gewelkt. In der Mitte größerer Ergastoplasma-Komplex, am Rande rechts ein weiterer, kleiner (im Entstehen begriffen?). *M* Mitochondrien, nur wenig verändert. Dictyosomen (*D*) schräg geschnitten, keine Sekretvesikel. Elt. opt. 7500 ×, Endvergr. 30000 ×

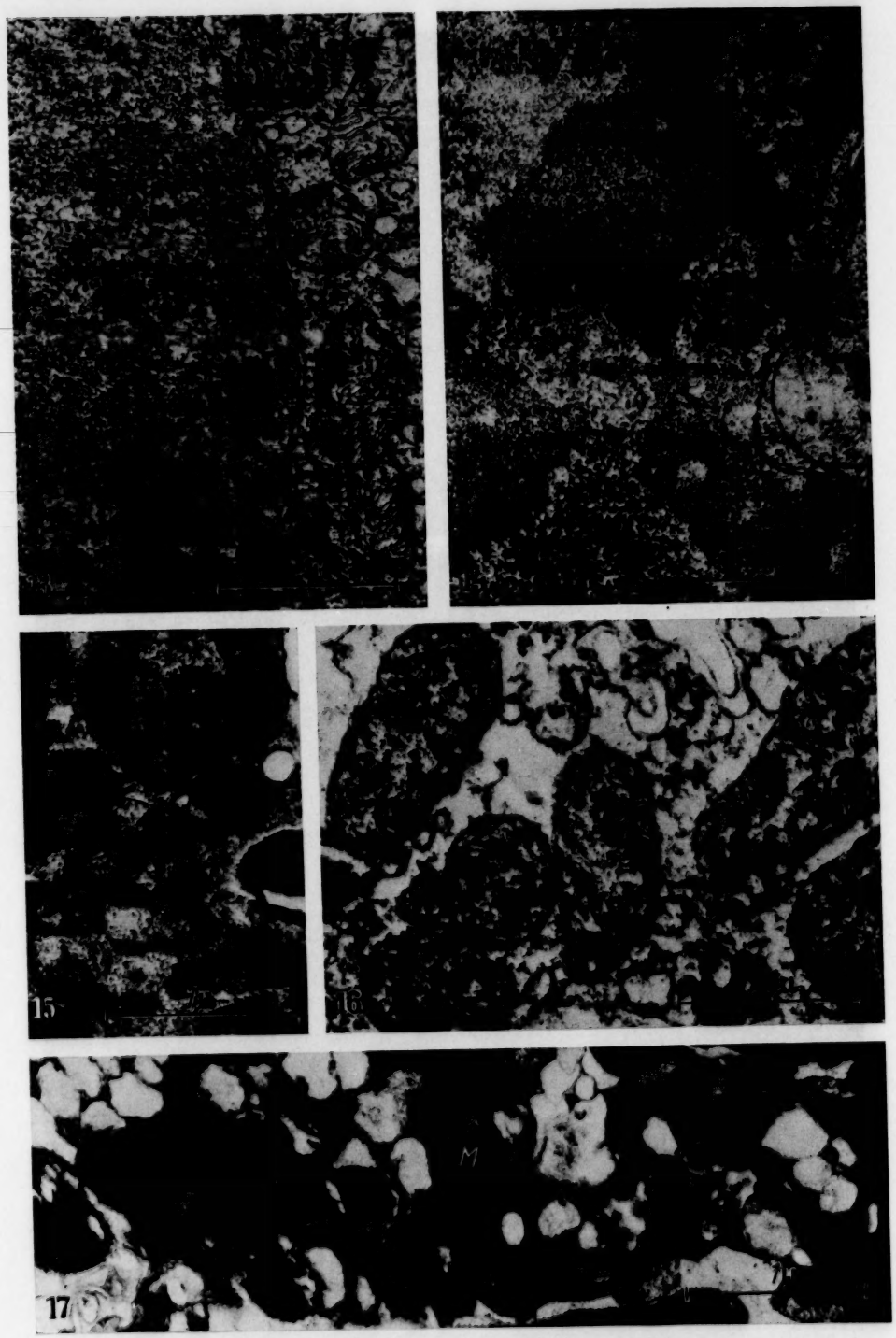


Abb. 13—17. (Legenden auf gegenüberliegender Seite)

Größe der Mitochondrien-Anschnittsfläche (ebenfalls nach Messungen an je 250 Mitochondrienanschnitten) verringert sich beispielsweise nur von 1,35 μ^2 auf 0,87 μ^2. Ihr innerer Bau bleibt fast immer klar erkennbar, wenn die Zerstörungen durch das Platzen nicht zu groß sind.

3. Drosophyllum, Drüsenzellen

Die Struktur der „normalen" Zellen ist bereits ausführlich beschrieben (SCHNEPF 1960, 1961a).

Wie erwartet, werden die gestielten Drüsen durch den Transpirationsverlust stets wesentlich stärker beeinflußt als die sitzenden (Einfluß der Exposition). Die Chloroplasten führenden Zellen aus der Übergangszone zwischen Drüsenköpfchen und -stiel verändern sich auch nach dreistündigem Welken nur sehr wenig.

In vielem sind die Effekte in den Drüsenzellen ähnlich wie bei den Wurzelmeristemzellen der Erbse. Alle Plasmakomponenten schrumpfen bei größerem Wasserverlust stark, besonders die Mitochondrien. Bei ihnen läßt sich in den gestielten Drüsen nach 3 Std Austrocknung nur selten noch eine innere Organisation erkennen (vgl. Abb. 13 und 15). Ausmessungen an je 250 Anschnitten ergaben für die frischen Drüsen 1,43 μ^2, nach 3 Std Welken 0,46 μ^2 als durchschnittlichen Wert (ebenfalls keine Formveränderungen, Volumenschrumpfung daher auf etwa $^1/_9$). Nach 3 Std Welken und 3 Std Wiederaufsättigung vergrößerten sie sich wieder auf 1,26 μ^2. Trotz der großen Veränderungen durch den starken Wasserverlust erreichen also die Mitochondrien in kurzer Zeit fast ihre normale Größe und Struktur (Abb. 16) wieder. Bei mäßig starkem Welken ($1^3/_4$ Std) waren in einigen, relativ wenigen Drüsen die Innenstrukturen auffällig cristaähnlich geformt. In der Regel zeigten sie jedoch kaum eine Reaktion (Abb. 12).

Die Zellkerne weisen ähnliche Degenerationserscheinungen wie im Meristem der *Pisum*-Wurzeln auf. Sie werden auch hier pyknotisch (vgl. Abb. 13 und 14). Mitunter bekommen sie tiefe Einfaltungen (vgl. WEBER 1926).

Abb. 13. *Drosophyllum*, gestielte Drüse, äußere Drüsenzelle, frisch. Links Kern, rechts mehrere Mitochondrien. Elt. opt. 7500 ×, Endvergr. 25000 ×

Abb. 14. *Drosophyllum*, gestielte Drüse, äußere Drüsenzelle, $1^3/_4$ Std gewelkt. Teil des Zellkernes. Bei → Pore in der Kernmembran. Elt. opt. 7500 ×, Endvergr. 25000 ×

Abb. 15. *Drosophyllum*, gestielte Drüse, äußere Drüsenzelle, 3 Std gewelkt. Mehrere stark geschrumpfte Mitochondrien (und Plastiden?). Elt. opt. 7500 ×, Endvergr. 25000 ×

Abb. 16. *Drosophyllum*, gestielte Drüse, innere Drüsenzelle, 3 Std gewelkt, danach 3 Std aufgefrischt. Mitochondrien wieder normal. Elt. opt. 7500 ×, Endvergr. 25000 ×

Abb. 17. *Drosophyllum*, gestielte Drüse, äußere Drüsenzelle, 3 Std gewelkt. Mehrere kleinere geschrumpfte Ergastoplasma-Komplexe. *M* Mitochondrium. Elt. opt. 7500 ×, Endvergr. 25000 ×

Die Vacuolen schrumpfen. Dadurch wird ihr Inhalt verdichtet. Die osmiophilen Tropfen, die sich in ihnen befinden (wohl Gerbstoffe), nehmen dadurch scheinbar an Größe und Zahl zu.

Nur sehr selten sind Lamellen-Entmischungen zu beobachten.

Die Veränderungen an den Dictyosomen und Golgi-Vesikeln sind schon in einer früheren Mitteilung beschrieben (SCHNEPF 1961 b). Im allgemeinen besteht die Tendenz zur Vermehrung der Golgi-Lamellen, die Sekretvesikel werden vermindert. Im einzelnen sind aber zwischen den einzelnen Drüsen beträchtliche Unterschiede.

Das Verhalten des endoplasmatischen Reticulums ist auffällig. In normalen Drüsenzellen fehlt diese Zellkomponente in seiner „Zisternenform", abgesehen von der Kernmembran, fast völlig. Man findet jedoch zahlreiche vesiculäre Elemente (Abb. 13). Diese kommen auch in den Drüsen von gewelkten Blättern vor. Daneben tritt hier aber das endoplasmatische Reticulum sehr häufig in seiner am stärksten ausgeprägten Form, als Ergastoplasma, auf (Abb. 12, 17), und zwar in gestielten wie in sitzenden Drüsen, in den äußeren und inneren Drüsenzellen. In den anderen Teilen des Köpfchens wurde das nicht beobachtet.

Gewöhnlich enthält eine Zelle mehrere Ergastoplasma-Komplexe verschiedener Größe, häufig in der Nähe der Zellwände. Sie bestehen aus maximal etwa zwölf Zisternen, meistens jedoch weniger, und sind bis zu 3 μ lang. Die Zisternen sind außen mit RNP-Granula besetzt („rough surfaced"). In wenig veränderten Zellen (Abb. 12) sind sie mehr oder weniger stark aufgebläht, in stärker ausgetrockneten ist der intrazisternale Raum sehr schmal (Abb. 17).

Es hat den Anschein, daß sich diese Strukturen aus den in den unbeeinflußten Zellen reichlich vorkommenden Vesikeln bilden. Die Entstehung ist wahrscheinlich nach $1^3/_4$ Std schon mehr oder weniger abgeschlossen, mitunter findet man allerdings noch Übergangsformen (Abb. 12).

Wenn die gewelkten Blätter wieder aufgefrischt werden, lösen sich die Ergastoplasmakomplexe auf. Nach 3 Std sind nur noch ganz vereinzelte, unregelmäßig geformte Zisternen zu beobachten. Wie schon erwähnt, normalisieren sich in dieser Zeit auch die Mitochondrien, ebenso die anderen Zellkomponenten. Die Drüsen beginnen, erneut Schleim zu sezernieren. Das zeigt, daß nicht nur die Struktur, sondern auch die physiologische Aktivität wieder hergestellt ist.

IV. Diskussion

Der größte Teil der beim Welken der *Pisum*-Wurzeln und *Drosophyllum*-Drüsen beobachteten cytologischen Veränderungen ist sicherlich eine unmittelbare Folge des Wasserentzuges. Das Entstehen und Verschwinden eines „Ergastoplasmas" beim Trocknen und Wiederauffrischen der Drüsen steht damit nur indirekt in Verbindung.

Es ist bekannt, daß das endoplasmatische Reticulum, besonders das Ergastoplasma, ein Ort hoher Aktivität bei Eiweißumsetzungen, besonders Synthesen, ist (Literatur bei HIRSCH 1960). Nach MOTHES (1931) sind in welkenden Organen starke Störungen des normalen Eiweißstoffwechsels zu erwarten. Junge Organe reichern sich dabei unter Umständen auf Kosten der alten an (s. auch ABEL 1956). Der Plasmareichtum und die besondere Aktivität der Drüsenzellen, verglichen mit dem übrigen Blattgewebe, hat möglicherweise zur Folge, daß sie physiologisch „jünger" als die übrigen Zellen sind. Über Veränderungen des RNS-Stoffwechsels bei Wassermangel berichten GATES und BONNER (1959).

Daher könnte die Bildung des Ergastoplasmas in welkenden Drüsen ein morphologischer Ausdruck eines veränderten stoffwechselphysiologischen Geschehens sein. Allerdings verhalten sich die wirklich jungen Wurzelmeristemzellen anders. Es wäre daher noch zu prüfen, ob und in welcher Art solche Umschaltungen stattfinden.

Morphologische Unterschiede kommen z. B. im Ergastoplasma des Pankreas in Abhängigkeit vom Funktionszustand vor (z. B. PALADE 1959). Auch hier erfolgen die Umwandlungen in kurzer Zeit.

Von pathologischen Veränderungen des endoplasmatischen Reticulums ähnlich wie in austrocknenden *Drosophyllum*-Drüsen berichtet unter anderen WRISCHER (1960). Demnach bildet sich bei Sauerstoffmangel in Meristemzellen ebenfalls ein typisches Ergastoplasma.

Der schnelle Auf- und Abbau dieser Komplexe zeigt, wie variabel plasmatische Strukturen sein können. Allzuleicht ist man geneigt, in einer „Struktur" etwas Statisches zu sehen.

Es zeigt sich ebenfalls am Beispiel der Mitochondrien und des Kernes, wie sehr Zellbestandteile verändert werden können. In Extremfällen verlieren die Mitochondrien ihre typische Struktur scheinbar völlig. Das kann in kurzer Zeit rückgängig gemacht werden. Vermutlich werden beim Austrocknen die Sacculi nur unkenntlich. Sie legen sich eng aneinander, zudem wird die Matrix so verdichtet, daß sie einen ähnlichen Kontrast bekommt. Besonders auffällig ist, daß sich auch der Raum zwischen äußerer und innerer Mitochondrienmembran bei wechselnder Wassersättigung stark ändert. Er dürfte demnach quellbare oder lösliche Substanzen enthalten.

Es ist die Frage, wieweit die im Elektronenmikroskop beobachteten Strukturen noch den Verhältnissen vor der Fixierung entsprechen. Nach dem einstündigen Welken waren die Erbsenwurzeln in der Streckungszone stark geschrumpft, weniger in der Spitze. Während der Fixierung (mit einem in Wasser aufgelösten Reagens) ging dieser Austrocknungseffekt erkennbar zurück.

Das mit oder sogar vor dem Osmiumtetroxyd bzw. Bichromat eindringende Wasser hat offenbar dabei den stark entquollenen Protoplasten wieder einigermaßen aufgesättigt, ehe die Strukturen durch die Fixierung wirklich stabilisiert waren.

Ich halte es für wahrscheinlich, daß das Platzen der Plastiden und Mitochondrien in den Zellen aus der Streckungszone der Erbsenwurzeln erst hierdurch verursacht wurde, daß diese Effekte also eigentlich Kunstprodukte sind. Sie zeigen jedoch sehr gut, wie labil die Zellstrukturen in ausgetrocknetem Zustand sind. Wohl aus dem gleichen Grunde sind die Schrumpfungen in diesen Zellen scheinbar gering.

Eine Entscheidung darüber, ob auch die Verklumpungen der Membranen, besonders der Golgi-Zisternen, und die aus ihnen hervorgegangenen unregelmäßigen, stark osmiophilen Gebilde artifiziell sind, ist schwieriger. Es handelt sich wohl um Entmischungen. Diese könnten schon beim Austrocknen oder erst beim Zutritt der wäßrigen Fixierungslösung entstanden sein. Für die erste Möglichkeit sprechen Befunde über die Veränderung der Chloroplasten-Fluorescenz bei Plasmolyse. Bei starkem Wasserentzug geht das Chlorophyll offenbar in Lösung (EGLE 1961).

Die Membranknäule bilden sich aus dem Material dieser degenerierten Membranen, vorwiegend wohl aus den Golgi-Apparaten. Die Ähnlichkeit mit Myelinfiguren ist groß. Solche Myelinfiguren bilden sich, wenn Phosphorlipoide mit Wasser vermischt werden. Die Beobachtung, daß sie sich vorwiegend aus den Golgi-Strukturen entwickeln, deutet auf deren Reichtum an Phosphorlipoiden, was in Einklang mit den analytischen Befunden von KUFF und DALTON (1959) an isolierten Dictyosomen steht.

Bei den in den welkenden Erbsenwurzeln beobachteten Membranknäulen wie bei den Entmischungen ist es nicht ganz klar, ob es sich um „Artefakte" handelt. Gewiß ist, daß erst der Wasserverlust die Voraussetzung für ihr Entstehen gegeben hat. Ähnliche Strukturen sind in den frischen Wurzeln niemals aufgetreten. Sie könnten also nach der Terminologie von WOHLFARTH-BOTTERMANN (1961) als „Äquivalentstrukturen" (im weiteren Sinne) bezeichnet werden.

SITTE (1958) beobachtete allerdings den Membranknäulen vergleichbare Gebilde auch in unbeeinflußten Erbsenwurzeln, jedoch nur nach Fixierungen mit Formol. Es handelte sich dort um Abkömmlinge des Tonoplasten. MENKE (1959) fand Ähnliches im Vegetationskegel von *Elodea densa* nach Formolfixierungen. Er vermutet, daß es sich um pathologische Erscheinungen handelt. Solche „Myelinfiguren" werden aber auch bei Osmiumfixierungen beobachtet, z. B. von GEZELIUS (1961) in Nahrungsvacuolen von Acrasieen um die in Verdauung befindlichen Bakterien.

Bei den Strukturen in den gewelkten Erbsenwurzeln ist die Einzellamelle etwa 65 Å dick. SITTE und MENKE ermittelten bei ihren Objekten Perioden von 33 Å. Bei reinen Phosphorlipoiden maßen STOECKENIUS, SCHULMAN und PRINCE (1960) 40 Å, bei Gemischen aus Phosphorlipoiden und Eiweiß waren die äußeren Lamellen eines Komplexes dicker. Nach den Ergebnissen von FINEAN (1960a und b) werden die elektronenmikroskopisch bestimmbaren Werte sehr von der stofflichen Zusammensetzung der Membranen und ihrem Quellungszustand beeinflußt. Eine eingehendere Deutung der Membranknäule ist daher schwierig.

Bei den Faltenbildungen aus dem Plasmalemma (Abb. 1) handelt es sich wahrscheinlich ebenfalls um Ähnliches. Myelinfiguren aus dem Tonoplasten (GICKLHORN 1932) wurden nicht beobachtet.

Vergleichbar mit den „Entmischungen" sind die Veränderungen an den Ektodesmen, die in welkenden Blättern beobachtet wurden (SCHNEPF 1959).

Im Zusammenhang mit den Fragen der plasmatischen Toleranz gegen Austrocknung ist es vielleicht nicht so interessant, ob die beschriebenen Effekte „Artefakte" sind oder nicht. Wichtig ist, daß solche Mißbildungen überhaupt auftreten. Letztlich verursacht sind sie durch den Wasserentzug, entstanden möglicherweise erst beim nachträglichen Wasserzutritt. Vielleicht können sie bei schonenderen experimentellen Bedingungen umgangen werden.

ILJIN betont in seinen zahlreichen Arbeiten über die Lebensfähigkeit der Pflanzenzellen in ausgetrocknetem Zustand (z. B. 1927, 1930, 1935a und b) immer wieder, wie wichtig eine langsame Entwässerung sei. Noch einflußreicher sei eine vorsichtige Wiederbefeuchtung. Nach diesem Autor beruht das Absterben bei schnellem Welken und Auffrischen hauptsächlich auf einer mechanischen Zerstörung des Protoplasten. Infolge zu großer Spannungen zwischen der schrumpfenden Vacuole und der Zellwand kommt es danach zu inneren Verschiebungen und Reibungen, sogar zu Rißbildungen.

Solche Effekte wurden bei *Pisum* in seltenen Fällen beobachtet. Die geplatzten Mitochondrien und Plastiden aus der Streckungszone der Erbsenwurzeln zeigen jedoch, daß Zerreißungen anderer Art ebenfalls vorkommen können. Diese beruhen auf den Permeabilitätseigenschaften der Organellen (vgl. hierzu DE DUVE und BERTHET 1954 sowie MERCER, HODGE, HOPE und MCLEAN 1955).

Auffällig ist, daß diese Zerstörungen in den Meristem- und Drüsenzellen nicht auftreten, vielleicht, weil hier ganz andere Hydratisierungsverhältnisse herrschen. Auch ILJIN stellte die größere Resistenz der Meristemzellen bei der Austrocknung fest (1927).

Man darf vielleicht annehmen, daß sich unter normalen Bedingungen viele der zerstörten Membranen, besonders Tonoplast und Plasmalemma,

schnell neu bilden können. Darauf deuten unter anderem Befunde von HOLLE (1916) und RENNER (1932) über die Permeabilität ausgetrockneter Moose.

Die plasmatischen Lamellensysteme sind Träger zahlreicher Fermente. Ihre Zerstörung hat sicher großen Einfluß auf die enzymatische Aktivität. Es scheint mir aber fraglich, ob z.B. die häufig beobachtete Atmungssteigerung beim Welken (z.B. ILJIN 1923, MOTHES 1931, ENSGRABER 1954) hiermit in Zusammenhang steht (vgl. STOCKER 1956 und MOTHES 1956).

BOGEN (1948) stellte nach Untersuchungen über die Hitzeresistenz pflanzlicher Protoplasten eine Arbeitshypothese auf, „derzufolge die Resistenz bestimmt wird durch die Beständigkeit der Molekülform, während jede Molekülдeformierung zu Strukturzerstörungen und schließlich zum Zelltod führen kann". Möglicherweise spielen Deformierungen in der molekularen Architektur der plasmatischen Lamellen, Entquellungen ihrer hydrophilen Komponenten, bei den beobachteten Degenerationen eine Rolle. Auch LEPESCHKIN (1943) hält es für möglich, daß eine der Ursachen des Absterbens beim Austrocknen in dem Verlust der hydrophilen Eigenschaften der Plasmakolloide liegt. „Koagulierungen" des Protoplasten, allerdings auf Grund gröberer mechanischer Ursachen, zieht ILJIN (1935a) ebenfalls in Betracht.

Die Versuche und Ergebnisse zeigen, daß bei der Erforschung plasmatischer Eigenschaften wie der „Austrocknungsresistenz" neben zellphysiologischen und stoffwechselphysiologischen auch zellmorphologische Methoden mit herangezogen werden sollten, die durch das Elektronenmikroskop möglich geworden sind. Die Beobachtungen erlauben jedoch noch keine fundierte Stellungnahme zu der Reaktions-Restitutions-Theorie von STOCKER (Übersicht 1956, vgl. auch LEVITT 1958). Auch Zuordnungen von bestimmten Strukturaspekten zu plasmatischen Zustandsgrößen sind noch nicht versucht (vgl. dagegen WOHLFARTH-BOTTERMANN 1959).

Die großen Unterschiede im Verhalten der untersuchten Zellen zeigen die Vielfältigkeit der Beziehungen zwischen Wassergehalt und Feinstruktur.

Zusammenfassung

Wurzelspitzen der Erbse und *Drosophyllum*-Drüsen wurden in normalem, gewelktem und (nur bei *Drosophyllum*) in wieder aufgefrischtem Zustand elektronenmikroskopisch nach Osmium-Bichromat-Fixierung und Einbettung in Vestopal untersucht.

Bei Zellen aus dem Rindenmeristem der Erbsenwurzeln schrumpfen durch den Wasserentzug alle Zellkomponenten, besonders die Mitochondrien. Der Kern wird pyknotisch. Alle plasmatischen Lamellen, besonders die Golgi-Zisternen, verklumpen und entmischen sich häufig.

Teilweise entstehen daraus myelinartige Membranknäule, besonders in den Rindenzellen aus der Streckungszone. Diese Zellen schrumpfen scheinbar nicht so stark. Sie enthalten dagegen häufig geplatzte Mitochondrien und Plastiden. Es wird diskutiert, wieweit diese Effekte artefiziell sind.

Die Drüsenzellen von *Drosophyllum* verhalten sich in mancher Hinsicht ähnlich wie die Meristemzellen der Erbsenwurzeln. Membranzerstörungen sind selten. Während des Welkens entsteht in ihnen ein typisches Ergastoplasma, das in den normalen Drüsen fehlt. Dieses verschwindet beim Auffrischen der Blätter wieder. Ebenso normalisieren sich alle anderen Zellkomponenten.

Die Untersuchungen zeigen, wie veränderlich die Feinstruktur des Protoplasten ist und geben einige Hinweise über die Vorgänge beim Dürretod.

Ich danke der Deutschen Forschungsgemeinschaft für ihre Unterstützung.

Literatur

Abel, W.O.: Die Austrocknungsresistenz der Laubmoose. S.-B. öst. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl., Abt. I **165**, 619—707 (1956).

Bogen, H.J.: Untersuchungen über Hitzetod und Hitzeresistenz pflanzlicher Protoplaste. Planta (Berl.) **36**, 298—340 (1948).

Drawert, H., u. M. Mix: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Desmidiaceen. IV. Mitt. Beiträge zur elektronenmikroskopischen Struktur des Interphasekernes von *Micrasterias rotata*. Z. Naturforsch. (1961, im Druck).

Duve, C. de, and J. Berthet: The use of differential centrifugation in the study of tissue enzymes. Int. Rev. Cytol. **3**, 225—275 (1954).

Egle, K.: Chloroplasten-Fluorescenz und Photosynthese. Vortrag a. d. Rhein-Main. Bot. Koll., Gießen, 2. 5. 1961. Ausführl. Veröff. in: Beitr. Biol. Pflanzen (1961, im Druck).

Ensgraber, A.: Über den Einfluß der Antrocknung auf die Assimilation und Atmung von Moosen und Flechten. Flora (Jena) **141**, 432—475 (1954).

Finean, J.B.: Electron microscope and x-ray diffraction studies of the effects of dehydration on the structure of nerve myelin. I. Peripheral nerve. J. biophys. biochem. Cytol. **8**, 13—29 (1960a).

— Electron microscope and x-ray diffraction studies of the effects of dehydration on the structure of nerve myelin. II. Optic nerve. J. biophys. biochem. Cytol. **8**, 31—37 (1960b).

Gates, C.T., and J. Bonner: The response of the young tomato plant to a brief period of water shortage. IV. Effects of water stress on the ribonucleic acid metabolism of tomato leaves. Plant Physiol. **34**, 49—55 (1959).

Gezelius, K.: Further studies in the ultrastructure of Acrasiae. Exp. Cell Res. **23**, 300—310 (1961).

Gicklhorn, J.: Intracelluläre Myelinfiguren und ähnliche Bildungen bei der reversiblen Entmischung des Protoplasmas. Protoplasma **15**, 90—109 (1932).

Hirsch, G.C.: Dynamik der tierischen Zellen. In L. v. Bertalanffy u. F. Gessner, Handbuch der Biologie, Bd. I, S. 219—286. Konstanz: Akad. Verlagsges. Athenaion 1960.

HOLLE, H.: Untersuchungen über Welken, Vertrocknen und Wiederstraffwerden. Flora (Jena) **108**, 73—126 (1916).

ILJIN, W.S.: Einfluß des Welkens auf die Atmung der Pflanzen. Flora (Jena) **116**, 379—403 (1923).

— Über die Austrocknungsfähigkeit des lebenden Protoplasmas der vegetativen Pflanzenzellen. Jb. wiss. Bot. **66**, 947—964 (1927).

— Die Ursachen der Resistenz von Pflanzenzellen gegen Austrocknen. Protoplasma **10**, 379—414 (1930).

— Die Veränderungen des Turgors der Pflanzenzellen als Ursache ihres Todes. Protoplasma **22**, 299—311 (1935a).

— Lebensfähigkeit der Pflanzenzellen in trockenem Zustand. Planta (Berl.) **24**, 742—754 (1935b).

KOMURO, H.: Cytological and physiological changes in *Vicia faba* irridated with Röntgen rays. Bot. Gaz. **77**, 446—452 (1924).

— Kann man den sog. „Radkern" der Plasmazellen genetisch als ein Gebilde sui generis betrachten? Proc. Imp. Acad. Tokyo **4**, 500—502 (1928).

KUFF, E.L., and A.J. DALTON: Biochemical studies of isolated Golgi membranes. In T. HAYASHI, Subcellular particles, pp. 114—127. New York: Ronald Press Comp. 1959.

LEPESCHKIN, W.W.: Zur Kenntnis des Absterbens der Hefe beim Austrocknen. Protoplasma **37**, 404—414 (1943).

LEVITT, J.: Frost, drought, and heat resistance. In L.V. HEILBRUNN u. F. WEBER, Protoplasmatologia, Handbuch der Protoplasmaforschung, Bd. VIII, H. 6. Wien: Springer 1958.

LUND, H.A., A.E. VATTER and J.B. HANSON: Biochemical and cytological changes accompanying growth and differentiation in the root cell of *Zea mays*. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 87—98 (1957).

MENKE, W.: Myelinfiguren im Cytoplasma meristematischer Zellen. Protoplasma **51**, 127—130 (1959).

MERCER, F.: The submicroscopic structure of the cell. Ann. Rev. Plant Physiol. **11**, 1—24 (1960). Von den beiden zitierten Originalarbeiten [J.D. MCLEAN, The structure of the plant cell; Doctoral Diss. University of Sydney, Australia, 1956, sowie F.V. MERCER, Cytology and the electron microscope; Proc. Linnean Soc. N.S. Wales **81**, 4—19 (1956)] war mir die erste nicht zugänglich. Die Angaben aus der zweiten Arbeit sind nicht in ihr enthalten.

MERCER, F.V., A.J. HODGE, A.B. HOPE and J.D. MCLEAN: The structure and swelling properties of *Nitella* chloroplasts. Aust. J. biol. Sci. **8**, 1—18 (1955).

MOTHES, K.: Zur Kenntnis des N-Stoffwechsels höherer Pflanzen. 3. Beitrag (unter besonderer Berücksichtigung des Blattalters und des Wasserhaushaltes). Planta (Berl.) **12**, 686—731 (1931).

— Der Einfluß des Wasserzustandes auf Fermentprozesse und Stoffumsatz. In W. RUHLAND, Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. III, S. 656—664. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.

PALADE, G.E.: Functional changes in structure of cell components. In T. HAYASHI, Subcellular particles, pp. 64—83. New York: Ronald Press Comp. 1959.

RENNER, O.: Zur Kenntnis des Wasserhaushalts javanischer Kleinepiphyten. Planta (Berl.) **18**, 215—287 (1932).

SCHNEPF, E.: Untersuchungen über Darstellung und Bau der Ektodesmen und ihre Beeinflußbarkeit durch stoffliche Faktoren. Planta (Berl.) **52**, 644—708 (1959).

— Zur Feinstruktur der Drüsen von *Drosophyllum lusitanicum*. Planta (Berl.) **54**, 641—674 (1960).

Schnepf, E.: Licht- und elektronenmikroskopische Beobachtungen an Insektivoren-Drüsen über die Sekretion des Fangschleimes. Flora (Jena) **151**, 73—87 (1961a).
— Quantitative Zusammenhänge zwischen der Sekretion des Fangschleimes und den Golgi-Strukturen bei *Drosophyllum lusitanicum*. Z. Naturforsch. (1961b, im Druck).
Setterfield, G.: Structure and composition of plant-cell organelles in relation to growth and development. Canad. J. Bot. **39**, 469—489 (1961).
Sitte, P.: Die Ultrastruktur von Wurzelmeristemzellen der Erbse *(Pisum sativum)*. Protoplasma **49**, 447—522 (1958).
Stocker, O.: Die Dürreresistenz. In W. Ruhland, Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. III, S. 696—741. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.
Stoeckenius, W., J.H. Schulman and L.M. Prince: The structure of myelin figures and microemulsion as observed with the electron microscope. Kolloid-Z. **169**, 170—180 (1960).
Tazaki, T.: Studies on the dehydration resistance of higher plants. I. Determination of the measures related to the dehydration resistance of mulberry plants. Bot. Mag. (Tokyo) **73**, 148—155 (1960).
Weber, F.: Der Zellkern der Schließzellen. Planta (Berl.) **1**, 441—471 (1926).
Wohlfarth-Bottermann, K.E.: Die Kontrastierung tierischer Zellen und Gewebe im Rahmen ihrer elektronenmikroskopischen Untersuchung an ultradünnen Schnitten. Naturwissenschaften **44**, 287—288 (1957).
— Cytologische Studien. VI. Gestattet das elektronenmikroskopische Bild Aussagen zur Dynamik in der Zelle? Z. Zellforsch. **50**, 1—27 (1959).
— Cytologische Studien. VII. Strukturaspekte der Grundsubstanz des Cytoplasmas nach Einwirken verschiedener Fixierungsmittel. Untersuchungen am Hyaloplasma von Amöben der *Limax*- und *Proteus*-Gruppe. Protoplasma **53**, 259—290 (1961).
Wrischer, M.: Veränderungen des endoplasmatischen Reticulums pflanzlicher Zellen, verursacht durch Sauerstoffmangel. Naturwissenschaften **47**, 521—522 (1960).

Dr. Eberhard Schnepf,
Botanisches Institut der Universität, Marburg a. d. Lahn, Pilgrimstein 4

Planta 57, 176—201 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Justus Liebig-Universität zu Gießen

BIOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER VERNALISATION UND BLÜTENBILDUNG DER GERSTE*

II. Mitteilung

Von

GISELA SPARMANN

Mit 15 Textabbildungen

(Eingegangen am 11. Mai 1961)

Einleitung

In früheren Untersuchungen konnten durch verschiedenartige Behandlung der Gerste indirekte Hinweise auf die biochemischen Vorgänge beim Übergang in die sexuelle Reproduktion gewonnen werden (SPARMANN 1961). Deshalb wurden nun chemische Analysen während der Vernalisation und des Eintrittes in die reproduktive Entwicklung durchgeführt, um einen direkten Einblick in die stofflichen Veränderungen zu erhalten.

Über den Zusammenhang zwischen „Blühstimmung" durch Vernalisation und stoffwechselphysiologischen Veränderungen liegen für die Wintergetreide zahlreiche Untersuchungen vor (zusammenfassende Literatur bei: BORRISS 1952, HÄNSEL 1953, DUPÉRON 1952, 1953). Von besonderem Interesse ist das Verhalten der thermolabilen Proteine während der Kälteinduktion. Nach den Angaben von KONOWALOW u. POPOWA (1941) wird durch die Vernalisation die Aktivität der proteolytischen Fermente gesteigert und im allgemeinen die Synthese zugunsten der Hydrolyse verringert. Der Abbau des Eiweißes scheint bis zur Stufe der wasserlöslichen Proteine zu erfolgen, deren Konzentration häufig erhöht ist (NILOWA u. PAWLENKO, 1940). — Eine quantitative Veränderung der Aminosäuren von Eiweißhydrolysaten während der photoperiodischen Induktion wurde von METZNER (1955) bei *Kalanchoe* nachgewiesen. Es schien deshalb angebracht, den Proteinkomplex der Gerste während des die Blühstimmung bedingenden Vernalisationsvorganges und der weiteren Entwicklung der Pflanzen, unter besonderer Berücksichtigung der Blütenbildung, zu untersuchen.

Die Analyse der freien Aminosäuren war naheliegend, zumal VIRTANEN u. LAINE (1936), McCOY et al. (1953) u. a. Veränderungen im Aminosäurengehalt der Pflanze während der Blütenbildung feststellten. Außerdem

* Auszug aus einer Dissertation der Naturwissenschaftlich-Philosophischen Fakultät der Justus Liebig-Universität, Gießen.

II. Mitteilung zu der in Band 56, S. 447 (1961) erschienenen Arbeit.

läßt sich die Blütenbildung durch Zugabe von Aminosäuren beeinflussen (LEOPOLD u. GUERNSEY 1953).

Ferner ist der Gehalt an löslichen Kohlenhydraten nach der Vernalisation erhöht (DUPÉRON 1953). Ein erhöhter Kohlenhydratgehalt neben einer Reduktion der stickstoffhaltigen Komponenten, also ein erhöhtes C/N-Verhältnis, würde darauf hinweisen, daß die Klebssche Ansicht über die Blütenbildung auch für die Gerste zutrifft.

Es war daher zu prüfen, ob sich neben Veränderungen der Proteine auch Schwankungen im Aminosäuren- und Zuckergehalt sowie des sich daraus ergebenden C/N-Verhältnisses während der thermischen Induktion und während des Überganges der Gerste in die reproduktive Entwicklung feststellen lassen.

Für diese biochemischen Untersuchungen ist die Mammut-Wintergerste sehr geeignet. Morphologisch lassen sich bei ihr die Anlage der Blütenprimordien sowie der Schoßbeginn zeitlich recht genau feststellen (s. dazu auch SPARMANN 1961). Ferner läßt sich die reproduktive Entwicklung der Gerste durch Bestrahlung mit UV-Licht hemmen. Die Analyse dieser UV-bestrahlten Pflanzen könnte einen weiteren Hinweis auf die stoffwechselphysiologischen Vorgänge geben, die bei dem Übergang von der vegetativen in die reproduktive Entwicklung bedeutsam sind.

Der erste Teil der vorliegenden Arbeit befaßt sich mit Methoden zur Analyse der löslichen Eiweiße, freien Aminosäuren und Kohlenhydrate. Im zweiten Teil werden die quantitativen Veränderungen dieser Stoffe während der Vernalisation und des ungestörten Überganges der Gerste in die reproduktive Entwicklung mitgeteilt. Schließlich wird im dritten Teil der Einfluß der UV-Bestrahlung auf den Stoffwechsel der „blühgestimmten" Pflanzen kurz geschildert.

Teil I

A. Das Material und seine Behandlung

Für die vorliegenden Untersuchungen wurde Mammut II-Wintergerste verwendet. Über die Anzucht des Materials, Kältebehandlung und die UV-Bestrahlung finden sich ausführliche Angaben in einer vorausgegangenen Mitteilung (SPARMANN 1961).

B. Biochemische Methoden

1. Die Fraktionierung des Eiweißkomplexes der Gerste mit Hilfe der Hochspannungs-Papierelektrophorese

Die im Preßsaft von Gerstenblättern gelösten Eiweißkomponenten lassen sich durch Papierelektrophorese bei 110—220 V Spannung nicht zerlegen. Es kommt unter diesen Versuchsbedingungen weder zur Wanderung noch zur Fraktionierung der Gerstenproteine.

Dafür dürfte vor allem die Adsorption am Papier sowie an nichtwandernden Extraktkomponenten verantwortlich sein. Ähnliche

Verhältnisse finden sich auch beim Eiweiß der Zuckerrübe (REGGELIN 1953, SCHNEIDER 1961) sowie den *Kalanchoe*-Proteinen (METZNER 1954). Durch Anwendung einer erhöhten Feldstärke läßt sich jedoch eine Aufgliederung des Eiweißkomplexes der Gerste erreichen (SCHNEIDER u. SPARMANN 1955).

Als Puffer erwies sich der Borat-NaOH-Puffer nach SÖRENSEN vom $p_H = 12{,}3$ geeignet. Die Kühlung der Elektrophoresestreifen wurde durch eine Pufferverdünnung (hier: 1:3) umgangen. Es ist günstig, die Elektrophorese selbst bei höchstens 1500 Volt (3 mA/Streifen von 4 cm Breite) in 2—3 Std durchzuführen. Die Anwendung einer höheren Spannung führt nicht zu einer schärferen Trennung der hochmolekularen — im Gegensatz zu den niedermolekularen — Stoffen. Die einzelnen Eiweißfraktionen konnten durch Anfärben mit Amidoschwarz 10B (Bayer) sichtbar gemacht werden. Zur Färbung und Differenzierung der Elektropherogramme wurde die von GRASSMANN u. HANNIG (1952) für Serumproteine angegebene Methode verwendet. Die quantitative Auswertung dieser Adsorptionsfärbung ist möglich. Als Bezugsgröße wurde Humanalbumin der Behring-Werke (Op.-Nr. 885) verwendet, dessen Eichkurve zwischen 50 und 700 γ linear ansteigt.

Tabelle 1. *Wanderungsstrecken (in cm) bei der Hochspannungs-Papierelektrophorese der einzelnen Proteinkomponenten aus Preßsäften angequollener Körner, Koleoptilen und verschieden alter Blätter*

Borat-NaOH-Puffer 1:3, $p_H = 11$; 3 mA/Streifen (4 cm × 30 cm); Versuchsdauer 3 Std. Start 9 cm von der Kathode entfernt, Wanderung in Richtung der Anode.

Bezeichnung	Angequollene Körner	Koleoptilen	Blätter von Pflanzen verschiedenen Alters			
			9 Tage	18 Tage	23 Tage	28 Tage
F	1,6	1,5	2,0[1]	1,5[1]	1,3[1]	1,8[1]
E	2,8	2,5	2,9[1]			
D	3,4[1]					3,5[1]
C	3,9	3,8[1]				
B	5,5	4,9	4,6	5,4	5,3	5,3
A	6,5		6,3	6,7	6,5	6,8

[1] Fraktion nur in Spuren vorliegend.

Die in den Preßsäften der Gerste vorliegenden, papierelektrophoretisch fraktionierbaren Eiweißkomponenten sind durch ihre verschiedene Wanderungsgeschwindigkeit im elektrischen Feld charakterisiert (Tabelle 1). Nur die Eiweißfraktionen *A* und *B* konnten stets, Fraktion *C* in einzelnen Fällen, quantitativ ausgewertet werden. Die übrigen Fraktionen liegen nur in nicht auswertbarer Menge vor (s. Tabelle 1). Die einzelnen papierelektrophoretisch gewonnenen Eiweißfraktionen aus dem Gerstenmaterial wurden nicht näher identifiziert.

II. Extraktion und qualitative Analyse der in der Gerste frei vorliegenden Aminosäuren

Neben dem Eiweiß lassen sich im Preßsaft die freien Aminosäuren als weitere, für die Entwicklung der Pflanze wichtige stickstoffhaltige Komponenten nachweisen. Für die Analysen wurde vor allem die Papierchromatographie herangezogen.

Die Verarbeitung des Preßsaftes mußte sehr schnell erfolgen, um Fermentwirkungen auszuschalten, die sekundäre Veränderungen des Gehaltes an freien Aminosäuren zur Folge haben können (s. dazu auch SCHNEIDER 1961). Die Preßsäfte wurden kurz zentrifugiert, filtriert und sofort auf Filtrierpapierstreifen als Querstrich aufgetragen (Körner: 0,01, Blätter 0,02 cm³/Streifen von 4 cm Breite). Es wurde aufsteigend papierchromatographisch gearbeitet. Als Lösungsmittel bewährte sich ein Gemisch von Isopropanol-Wasser-Ammoniak im Verhältnis 70:27:3 (SCHNEIDER 1961). Die Entwicklung der lufttrockenen Streifen erfolgte mit dem Ninhydrinreagens nach CONSDEN u. GORDON (1948) in einer wasserdampfgesättigten Atmosphäre für 15 min bei 100°C.

Auf diese Weise konnten 11 ninhydrinpositive Banden nachgewiesen werden. Die oberste erwies sich als mit Gramin identisch. Bei der Identifizierung der übrigen Zonen, die nach der zweidimensionalen Methode erfolgte, zeigte sich, daß diese sich jeweils aus verschiedenen Aminosäuren zusammensetzen. Als Lösungsmittel für die erste Laufrichtung wurde das oben angegebene Isopropanol-Wasser-Ammoniak-Gemisch verwendet, während für die zweite Laufrichtung das Lösungsmittel nach PARTRIDGE (1948) herangezogen wurde (n-Butanol-Eisessig-Wasser im Verhältnis 40:10:50). Bei der Identifizierung wurde auf die Testbögen mit dem Preßsaft zusammen je eine synthetische Aminosäure punktförmig aufgetragen. Diese Bögen wurden mit entsprechenden Kontrollchromatogrammen verglichen, bei denen die gleiche Menge Preßsaft allein aufgetragen worden war.

Tabelle 2. *Papierchromatographische Auftrennung der freien Aminosäuren aus Gerstenblattpreßsäften*

Lösungsmittel: Isopropanol-Wasser-Ammoniak (70:27:3).

Banden	R_f-Wert	Identifizierung	Eichsubstanz	Abkürzung
1	0,07	Cystein	nicht auswertbar	
2	0,08	Cystin		
3	0,13	Asparaginsäure, Glutaminsäure Glutamin	Asparaginsäure	Aspsr
4	0,20	Lysin	nicht auswertbar	
5	0,24	Arginin, Asparagin	Arginin	Arg
6	0,33	γ-Aminobuttersäure, Glykokoll, Histidin, Serin	γ-Aminobuttersäure	γ-Amb
7	0,45	α-Alanin	α-Alanin	Ala
8	0,50	Prolin, Threonin (?), Tryptophan, Tyrosin	nicht auswertbar	
9	0,65	Methionin, Valin	Methionin	Me
10	0,78	Isoleucin, Leucin, Phenylalanin	Phenylalanin	Phen

In Tabelle 2 sind die in den Gerstenblattpreßsäften identifizierbaren freien Aminosäuren aufgeführt. Daneben erwiesen sich einige ninhydrinpositive Flecken mit den zur Verfügung stehenden Testsubstanzen als nicht übereinstimmend. In Körnerpreßsäften liegen alle angeführten

Aminosäuren in höherer Konzentration vor als in den Blattpreßsäften und zeichnen sich vor allem durch einen hohen Prolingehalt aus. Obwohl sich gezeigt hatte, daß die bei der eindimensionalen Papierchromatographie gefundenen Banden sich jeweils aus verschiedenen Aminosäuren zusammensetzen, wurden diese Chromatogramme dennoch für die Reihenuntersuchungen herangezogen, da sie leicht quantitativ ausgewertet werden können. In Tabelle 2 sind diejenigen Aminosäuren angeführt, deren Eichkurven der quantitativen Analyse der betreffenden Zone zugrunde gelegt worden sind.

Die freien Aminosäuren aus sehr geringen Materialmengen (50—200 mg Frischmaterial) wurden in Anlehnung an ALLSOPP (1948) mit 70%igem Isopropylalkohol extrahiert. In diesen Extrakten lassen sich papierchromatographisch die gleichen Aminosäuren nachweisen wie in den Preßsäften. Nachteilig wirkt sich bei der Isopropanolextraktion jedoch aus, daß sich nicht alle Aminosäuren in Isopropanol gleich gut lösen. Im Preßsaft dürften sie jedoch in ihrem natürlichen Verhältnis zueinander vorliegen. Sowohl im Preßsaft, als auch in Isopropanolextrakten konnten die in nur sehr geringer Konzentration vorliegenden Aminosäuren nicht erfaßt werden.

Der Rückstand der Isopropanolextraktion enthält unter anderem die pflanzlichen Eiweiße. Durch eine Hydrolyse mit 6 n HCl für 16 Std bei 130°C werden die Eiweißaminosäuren freigesetzt. Bei der papierchromatographischen Analyse lassen sich die gleichen Banden nachweisen wie bei der Analyse der Isopropanolextrakte; die Aminosäuren liegen im Hydrolysat jedoch in höherer Konzentration vor.

III. Der Nachweis der im Gerstenmaterial frei vorliegenden Zucker

Im Preßsaft lassen sich neben den Eiweißen und Aminosäuren auch die freien Zucker nachweisen. Ihre Analyse erfolgte papierchromatographisch, bzw. papierelektrophoretisch mit hohen Spannungen. Als Lösungsmittel bewährte sich das für die Trennung der Aminosäuren verwendete Isopropanol-Wasser-Ammoniak-Gemisch (s. S. 179). Die R_f-Werte einiger synthetischer Zucker sind in Tabelle 3 zusammengefaßt. Als Puffer für die Papierelektrophorese der Zucker war der Borat-NaOH-Puffer nach SÖRENSEN geeignet, der auch zur Analyse des Eiweißkomplexes herangezogen (s. S. 178), zur Analyse der Zucker allerdings im Verhältnis 1:10 ($p_H = 10$) verdünnt wurde. Die Wanderungswerte für verschiedene synthetische Zucker sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Aus dieser Tabelle geht ferner hervor, daß die Wanderungsgeschwindigkeit der Zucker im elektrischen Feld — ähnlich wie die der Indolderivate (s. Tabelle 3, I. Mitt.) — stark von der Lage des Startpunktes zu den Elektroden abhängt.

Das Entwickeln der lufttrockenen Streifen erfolgte mit dem Anilinphthalatreagens nach PARTRIDGE (1948) für 10 min bei 100°C.

Es ist bemerkenswert, daß Fructose und Saccharose mit dem Indolkernreagens nach GORDON u. WEBER eine grün-schwarze Färbung ergeben. Diese Reaktion ist für eine quantitative Auswertung geeignet. Daneben lassen sich auch Arabinose, Lactose, Rhamnose, Ribose und Xylose mit diesem Reagens anfärben (vgl. dazu auch SCHNEIDER 1961).

In den Preßsäften angequollener Körner konnten Glucose, Fructose, Maltose, Saccharose und Ribose[1] nachgewiesen werden, von denen

[1] Wahrscheinlich liegt neben Ribose auch Xylose vor. Beide Substanzen ließen sich in den Extrakten weder papierchromatographisch noch papierelektrophoretisch trennen.

Tabelle 3. *Papierchromatographie und Hochspannungs-Papierelektrophorese einiger synthetischer Zucker*

Lösungsmittel: Isopropanol-Wasser-Ammoniak (70:27:3); Puffer: Borat-NaOH 1:10, p_H = 10, 1 mA/Streifen 2 × 30 cm); Versuchsdauer 30 min.

Substanz	R_f-Wert	Elektrophoretische Wanderung in Abhängigkeit von der Auftragsstelle			Färbung mit Anilinphthalat
		9 cm von der Anode	Streifenmitte	9 cm von der Kathode	
Arabinose	0,58	−3,2 cm	+1,4 cm	+5,5 cm	rot-braun
Fructose	0,57	−1,5 cm	+1,5 cm	+6,7 cm	gelb-braun
Galaktose	0,51	−4,2 cm	+0,7 cm	+5,5 cm	braun
Glucose	0,54	−3,8 cm	0	+4,3 cm	gelb-braun
Lactose	0,36	−5,2 cm	−0,5 cm	+3,5 cm	gelb-braun
Maltose	0,39	−5,2 cm	−0,6 cm	+2,9 cm	gelb-braun
Rhamnose . . .	0,83	−5,0 cm	−0,5 cm	+3,4 cm	braun
Ribose	0,66	−2,0 cm	+2,5 cm	+7,5 cm	rot-braun
Saccharose . . .	0,29	−4,5 cm	−0,6 cm	+3,0 cm	grün-schwarz [1]
Xylose	0,63	−3,9 cm	+1,3 cm	+5,2 cm	rot-braun

[1] Anfärbung mit Gordon-Weber's-Reagens.

Saccharose und Fructose in geringerer Konzentration vorliegen. Die Blattpreßsäfte enthalten vor allem Glucose neben geringen Mengen Ribose und Fructose, sowie eine Substanz mit dem R_f-Wert von 0,2, die sich mit dem Anilinphthalatreagens rötlich anfärbt, jedoch nicht identifiziert werden konnte.

Zum Nachweis der Fructose mußten größere Preßsaftmengen papierchromatographisch analysiert werden. Dabei kam es häufig zu einer nicht befriedigenden Zonenausbildung. Es erwies sich als günstig, den Preßsaft zu ultrafiltrieren und die Fructose im Filtrat papierchromatographisch zu bestimmen.

IV. Die quantitative Auswertung von Papierchromatogrammen und Elektropherogrammen

Die quantitative Auswertung der Eiweiße, Aminosäuren und Zucker erfolgte mit Hilfe des von GRASSMANN u. HANNIG entwickelten Elphor H-Gerätes. Dabei können die einzelnen Zonen unmittelbar aus den Chromatogrammen bzw. Elektropherogrammen durch die Messung ihrer Lichtschwächung quantitativ erfaßt werden. Zur Auswertung der Banden wurde das in das Gerät eingebaute Meßinstrument durch das Spiegelgalvanometer HLM4 der Firma Hartmann & Braun, Frankfurt a. M., ersetzt. Dadurch wird die Empfindlichkeit der Auswertung wesentlich erhöht. Die Proportionalität zwischen Lichtschwächung und Photostrom bleibt trotz des an den Stromkreis angelegten hohen Widerstandes erhalten (vgl. dazu KORTÜM 1948 S. 78), wie SCHNEIDER (1961) für diese Meßanordnung nachweisen konnte. Dabei war das Tränken der Chromatogramme mit Transparenzöl nicht erforderlich. — Die Flächen der auf diese Weise erhaltenen Verteilungskurven wurden durch Wägung ermittelt.

Die Messungen wurden alle auf den Papierleerwert (100 Skalenteile) bezogen. Zur quantitativen Bestimmung der Aminosäuren- und Zuckerchromatogramme war eine Lichtquelle von 5 Watt ausreichend. Zur quantitativen Auswertung der Eiweißpherogramme diente eine 10 Watt starke Lampe (6 Volt).

Teil II.

Analyse der biochemischen Veränderungen während der Vernalisation und während des ungestörten Überganges in die reproduktive Entwicklung

In diesem Teil werden die Ergebnisse der chemischen Analysen beschrieben, die vor allem unter zwei Gesichtspunkten durchgeführt wurden:

1. Zunächst sollten die Veränderungen von löslichem Eiweiß, freien Aminosäuren und Zuckern während der Vernalisation, die zur „Blühstimmung" der Gerste führt, untersucht werden.

2. Ferner schien es wichtig, die Veränderungen dieser Stoffe auch während der weiteren Entwicklung der vernalisierten Pflanzen zu verfolgen. Von besonderem Interesse ist hierbei der Zeitpunkt der Blütenanlage (etwa am 11. Entwicklungstag, von der Aussaat an gerechnet) sowie der Schoßbeginn (nach 4 Wochen, einschließlich der ersten Schoßphase). Um einen besseren Einblick in die biochemischen Vorgänge zu gewinnen, wurden zum Vergleich nicht kältebehandelte Pflanzen gleichzeitig analysiert. Da ein Teil dieser Exemplare unter günstigen Außenbedingungen nach 4—6 Wochen ebenfalls Blütenprimordien anlegt (SPARMANN 1961), mußten die Untersuchungen auf die ersten vier Entwicklungswochen beschränkt werden.

Für die Analysen wurden die jungen, noch wachsenden Blätter verwendet, da es technisch nicht möglich war, die zur biochemischen Analyse erforderliche Menge von Vegetationspunkten zu isolieren. Es ist jedoch anzunehmen, daß die durch den Blühimpuls bedingten stofflichen Veränderungen innerhalb des Vegetationspunktes auch auf die Blätter einen Einfluß haben (vgl. auch MOTHES u. ENGELBRECHT 1952). Versuchspflanzen und die entsprechenden Kontrollen wurden stets gleichzeitig extrahiert, um durch äußere Einflüsse bedingte Fehler auszuschalten. Als Bezugsgröße für die Analysendaten diente aus dem gleichen Grunde das Trockengewicht (Trg). Die Meßwerte sind in Prozent/Trg angegeben. Sämtliche Meßpunkte stellen Mittelwerte aus mehreren Versuchsserien dar.

Es wurden vor allem Preßsäfte zu den Untersuchungen herangezogen, da wohl die gelösten Proteine, Aminosäuren und Zucker im Stoffwechsel der Pflanze die größte Rolle spielen. Auch das Kohlenhydrat/Stickstoff-Verhältnis wurde aus den gewonnenen Absolutwerten der frei vorliegenden Zucker und Aminosäuren errechnet.

I. Biochemische Veränderungen während der Vernalisation der Wintergerste

Für diese Versuche wurden Gerstenkörner, wie in einer früheren Mitteilung angegeben, eingequollen und einer Kältebehandlung bei + 2° C ausgesetzt.

In Abständen von etwa 7 Tagen bis zum Abschluß der vollständigen Vernalisation (43 Tage) wurden Proben entnommen und analysiert. Zum Vergleich dienten bei Zimmertemperatur angekeimte Körner (Kontrollen), die in ihrer Entwicklung mit den Kältebehandelten übereinstimmten.

Für jede Analyse wurden 25 g des Materials mit 10 cm³ Wasser homogenisiert und der Brei ausgepreßt. Dieser Preßsaft wurde nach dem Zentrifugieren und Filtrieren zur Analyse verwendet.

Eiweiß. Von den hochspannungselektrophoretisch getrennten Eiweißkomponenten wurden die Fraktionen *A*, *B* und *C* quantitativ ausgewertet. Die Veränderungen dieser Proteinfraktionen im Laufe der Vernalisation sind in Abb. 1 (oben) dargestellt. Auffallend ist bei allen drei Fraktionen der starke Anstieg gegen Ende der Vernalisationsdauer, der bei den Komponenten *A* und *B* nach 23, bei *C* nach 32 Tagen einsetzt. Ferner ist charakteristisch, daß bei den vollständig vernalisierten Körnern die Fraktion *C* einen sehr hohen Wert erreicht. Die Gesamtmenge der löslichen Proteine, errechnet aus den Fraktionen *A*, *B* und *C*, die den weitaus größten Anteil des löslichen Eiweißes ausmachen, erfährt ebenfalls charakteristische Veränderungen (Abb. 1, unten). Zuerst nimmt der Eiweißgehalt im Laufe der ersten beiden Vernalisationswochen schwach zu, fällt dann bis zur 4. Woche ab, erreicht aber dennoch nach sechswöchiger Vernalisation einen recht hohen Wert.

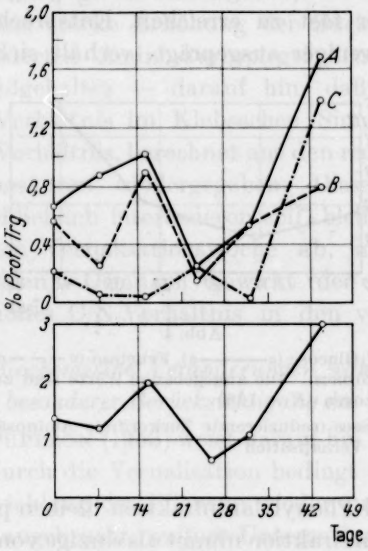


Abb. 1

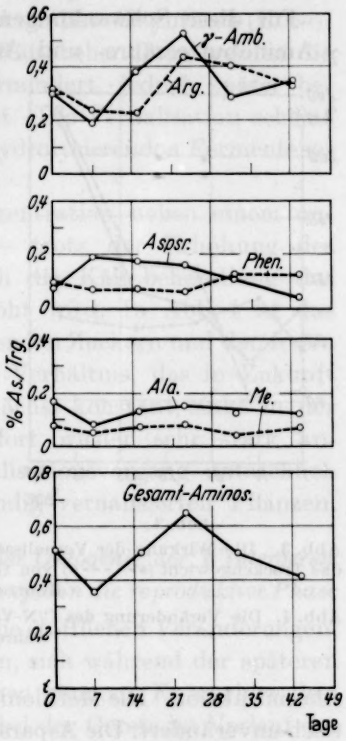


Abb. 2

Abb. 1. Oben: Die Veränderungen der Eiweißkomponenten *A*, *B* und *C* während der Vernalisation von Gerstenkörnern. Ordinate: Prozent Protein bezogen auf das Trockengewicht; Abszisse: Vernalisationsdauer in Tagen. Unten: Der Einfluß der Vernalisation auf den Gesamtgehalt an löslichen Proteinen während der Vernalisation von Gerstenkörnern. Koordinaten wie oben

Abb. 2. Die Wirkung der Kältebehandlung auf die Fraktionen der freien Aminosäuren und deren Gesamtkonzentration. Ordinate: Prozentanteil der einzelnen Aminosäurenfraktionen am Trockengewicht. Abszisse: s. Abb. 1

Aminosäuren. Die Summe der freien Aminosäuren verhält sich etwa umgekehrt (Abb. 2) wie die der Proteine. In der ersten Vernalisationswoche fällt die Gesamtkonzentration ab, steigt bis etwa zur 4. Woche an und sinkt dann bis zum Ende der Vernalisation wieder auf den Kontrollwert ab.

Für diese Schwankungen sind vor allem die Veränderungen der γ-Aminobuttersäure- und Argininfraktion verantwortlich, die nahezu konform verlaufen (Abb. 2). Nach einem Konzentrationsabfall in der ersten Woche erreichen sie nach 26 Tagen ein Maximum, um nach 42 Tagen ihren Ausgangswert wieder fast zu erreichen. Entsprechend, nur weniger ausgeprägt, verhält sich die

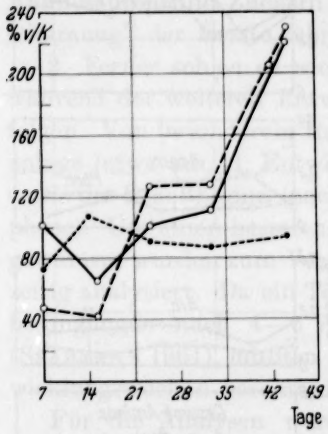


Abb. 3

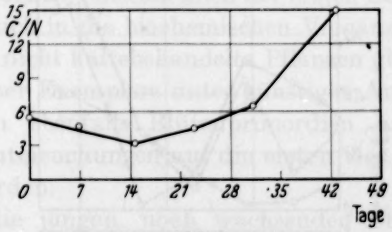


Abb. 4

Abb. 3. Die Wirkung der Vernalisation auf Glucose (o———o), Fructose (o— — —o) und das Trockengewicht (•- - - - -•) von Gerstenkörnern. Die angegebenen Werte sind auf die Kontrollen bezogen (K = 100)

Abb. 4. Die Veränderung des C/N-Verhältnisses (reduzierende Zucker/freie Aminosäuren) während der Vernalisation

Alaninfraktion. Die Methionin- und Phenylalaninfraktion bleiben praktisch unverändert. Die Asparaginsäurefraktion nimmt als einzige von den analysierten Fraktionen in der ersten Woche der Vernalisation beträchtlich zu, um dann kontinuierlich unter ihren Ausgangswert abzufallen.

Zucker. Aus Abb. 3 wird das Verhalten der Fructose und Glucose ersichtlich. Nach einwöchiger Kältebehandlung liegt der Fructosewert beträchtlich unter dem Kontrollwert. Von der zweiten Woche an nehmen Fructose und Glucose in ihrer Konzentration stark zu. In der gleichen Abbildung (3) ist das Verhältnis des Trockengewichtes der vernalisierten Körner zu dem der Kontrollen dargestellt. Nach anfänglichen Schwankungen unterscheiden sich die Trockengewichte nach der dritten Vernalisationswoche nicht mehr. Eine ähnliche Beobachtung hat auch AUGSTEN (1956) mitgeteilt.

In vollständig vernalisierten Körnern ist also die Konzentration der löslichen Proteinfraktionen gegenüber den Kontrollen erhöht, während die Gesamtmenge der freien Aminosäuren nach einem anfänglichen Anstieg wieder den Kontrollwert erreicht hat.

Dieses Ergebnis bestätigt den Befund verschiedener russischer Autoren (z. B. KONOWALOW und POPOWA 1941), daß durch die Kältebehandlung ein Eiweißabbau bis zur Stufe der löslichen Proteine erfolgt. Da gegen Ende der Vernalisationsperiode die Konzentration der löslichen Proteine zunimmt, die der Gesamtaminosäuren jedoch abfällt, besteht aber außerdem die Möglichkeit einer verstärkten Eiweißsynthese (KONOWALOW u. ROGALEW 1937). — Durch die Kältebehandlung werden die Glucose- und Fructosewerte zunächst vermindert, jedoch später beträchtlich gegenüber den Kontrollen erhöht. Die Vernalisation scheint im allgemeinen also eine Aktivierung der hydrolysierenden Fermente zu bewirken (vgl. DUPÉRON 1951).

Eine starke Erhöhung der Zuckerkonzentration neben einem unveränderten Aminosäurespiegel deuten — trotz der Erhöhung des Eiweißgehaltes — darauf hin, daß durch die Kältebehandlung das C/N-Verhältnis im Klebsschen Sinne erhöht wird. In Abb. 4 ist das C/N-Verhältnis, berechnet aus den reduzierenden Zuckern und den freien Aminosäuren, wiedergegeben. Dieses C/N-Verhältnis, das in Zukunft ausschließlich interessieren soll, bleibt zunächst konstant, sinkt in der zweiten Vernalisationswoche ab, um sofort wieder sehr stark anzusteigen. Demnach bewirkt der Vernalisationsvorgang tatsächlich ein hohes C/N-Verhältnis in den vollständig vernalisierten Pflanzen.

II. Biochemische Veränderungen während der Ontogenie der Wintergerste unter besonderer Berücksichtigung des Überganges in die reproduktive Phase

DUPÉRON (1953) weist darauf hin, daß die stofflichen Veränderungen, die durch die Vernalisation bedingt werden, sich während der späteren Entwicklung der Pflanzen wieder ausgleichen können. Es erschien deshalb angebracht, weitere Untersuchungen bei der Gerste im Verlauf der Entwicklung durchzuführen.

1. Die Wirkung von Extrakten der Versuchspflanzen in verschiedenen Entwicklungsstadien auf das Wachstum von Kressewurzeln. Unterschiede in der Extraktwirkung auf das Wurzelwachstum zwischen vernalisierten und Kontrollpflanzen lassen auf stoffliche Veränderungen in den Versuchspflanzen schließen. Geprüft wurden die alkoholischen Extrakte und deren Ätherfraktionen[1].

Die Extrakte wurden aus 10 g Frischmaterial (angekeimte Körner, Blätter) mit 100 cm³ Methanol hergestellt. Der nach dem Abdampfen des Lösungsmittels verbleibende Rückstand wurde mit je 20 cm³ Aqua bidest. aufgenommen. Jeweils 10 cm³ davon dienten als Testlösung, der Rest wurde mit Äther fraktioniert, zur Trockne eingedampft und mit 10 cm³ Aqua bidest. gelöst. Die ermittelte Wachstumshemmung der Lepidiumwurzeln ist zu dem Alter der Pflanzen in Beziehung gesetzt (Abb. 5).

[1] Über den biologischen und chromatographischen Nachweis von Wuchsstoffen und deren Einfluß auf die Entwicklung der Gerste vgl. SPARMANN (1961).

Die Abb. 5 läßt einen Vergleich zwischen Extraktwirksamkeit von vernalisierten und Kontrollexemplaren zu. Die Hemmung der Extrakte auf das Wurzelwachstum nimmt mit zunehmender Verdünnung ab; verdünnte Extrakte verhalten sich jedoch gleichartig wie unverdünnte Auszüge. Methanolextrakte und deren Ätherfraktionen unterscheiden

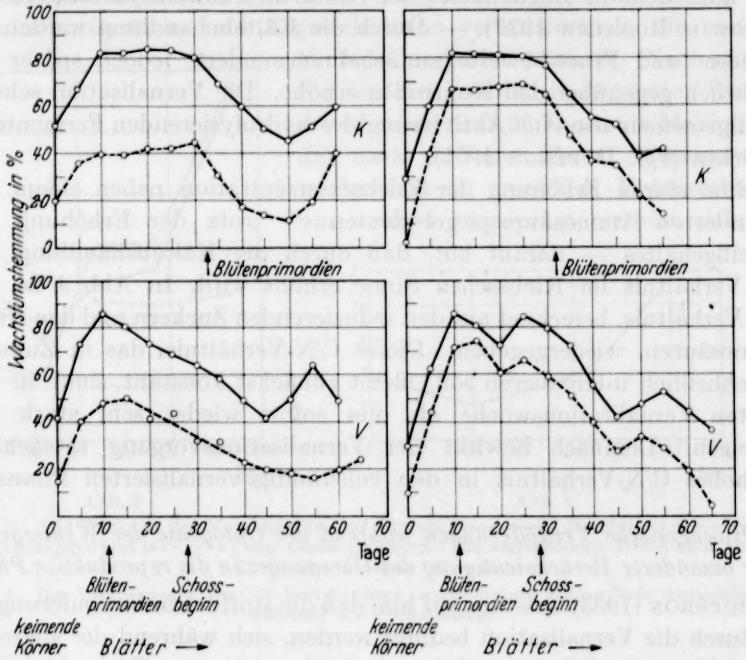


Abb. 5. Links: Der Einfluß von alkoholischen Blattextrakten auf das Wachstum von Lepidiumwurzeln während der Entwicklung von Kontrollen (*K*) und vernalisierter Gerste (*v*). Ordinate: Prozentuale Hemmung des Wurzelwachstums; Abszisse: Entwicklung der Gerste in Tagen. Extraktverdünnung: 1:10 (o———o) und 1:100 (o- - - - - o). Rechts: Der Einfluß der Ätherfraktionen alkoholischer Blattextrakte auf das Wachstum von Lepidiumwurzeln. Koordinaten wie in der linken Abbildung. Extraktverdünnung: 1:1 (o———o) und 1:10 (o- - - - - o)

sich wohl in ihrer absoluten Wirksamkeit, aber nicht in ihrer charakteristischen Wirkung auf das Wurzelwachstum.

Besonders auffällig ist beim Vergleich der physiologischen Wirkung von Extrakten aus vernalisierten Pflanzen und deren Kontrollen, daß in beiden Serien zunächst ein Anstieg der Hemmwirkung erfolgt. Bereits nach 10 Tagen (von der Aussaat an gerechnet) nimmt die Wirkung der Extrakte, die aus vernalisierten Pflanzen gewonnen wurden, wieder ab, die der Kontrollen erst nach 30—35 Tagen. Diese Termine stimmen mit dem der Anlage der Blütenprimordien überein. Bei beiden Serien nimmt also die Extraktwirksamkeit unmittelbar nach dem Beginn der reproduktiven Phase erheblich und kontinuierlich ab. Ohne Einfluß

auf den Kurvenverlauf bleibt der Schoßbeginn der vernalisierten Gerste (30 Tage).

Auf Grund der Testergebnisse kann gefolgert werden, daß zwischen vegetativen und reproduktiven Pflanzen stoffliche Unterschiede bestehen müssen. Diese Veränderungen sollten durch chemische Analysen genauer erfaßt werden.

2. Die chemische Analyse. Für die chemische Analyse der löslichen Proteine, der frei vorliegenden Aminosäuren und reduzierenden Zucker wurden ebenfalls vernalisierte Pflanzen und Kontrollen verwendet. Berücksichtigt wurde vor allem der Zeitraum, in dem die Blütenprimordien gebildet werden (Alter der Pflanzen: 9—12 Tage) und in dem die starke Streckung der Achse einsetzt (Alter der Pflanzen: 27 bis 30 Tage).

III. Eiweiß, Aminosäuren und Zucker

Eiweiß, Aminosäuren und Zucker wurden in den Preßsäften bestimmt, die aus oberirdischen, noch wachsenden Organen gewonnen wurden. Zum Teil stellen die Kurven Relativwerte dar. In diesem Falle beziehen sich die Daten der vernalisierten Pflanzen auf die Kontrollwerte, die gleich 100 gesetzt wurden (% v/K). Unter „keimenden Körnern" ist der Keimling mit der Karyopse zu verstehen (0 und 5 Tage alt).

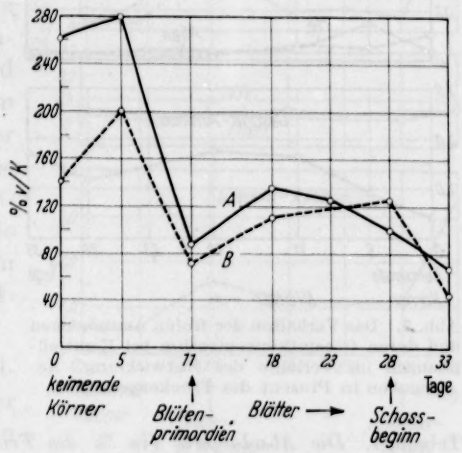


Abb. 6. Konzentrationsänderungen der Eiweißfraktionen *A* und *B* während der Entwicklung vernalisierter Gerste (*K* = 100)

Eiweiß. Von den hochspannungselektrophoretisch getrennten Eiweißkomponenten ließen sich meist nur die Fraktionen *A* und *B* quantitativ auswerten.

Aus der Abb. 6 geht das Konzentrationsverhältnis der Proteinfraktionen der vernalisierten Pflanzen zu den Kontrollen hervor. Unmittelbar nach der Vernalisation liegen beide Komponenten, vor allem *A*, beträchtlich über dem Kontrollwert.

In etwas älteren Keimlingen (5 Tage) steigt die Konzentration der Proteinfraktionen *A* und *B* noch etwas an und sinkt dann in den Blättern der Jungpflanzen rasch bis zum 11. Tag sogar unter den Kontrollwert ab. In diesem Alter sind bei den vernalisierten Pflanzen die Blütenprimordien bereits angelegt. Danach steigt die Konzentration beider Proteinfraktionen wieder etwas über den Wert der vegetativen Pflanzen. Für beide Komponenten ist charakteristisch, daß sie während der ersten Phase des Schossens (ab 28. Entwicklungstag) eindeutig unter den Kontrollwert

absinken. — Besonders deutlich kommen diese Verhältnisse zum Ausdruck, wenn man den Gesamtgehalt an löslichem Eiweiß berechnet und über die Entwicklung hin verfolgt.

Diese Konzentrationsänderungen lassen sich vor allem auf Verschiebungen des Eiweißgehaltes der kälteinduzierten Pflanzen zurückführen (Tabelle 4). Die Absolutwerte für keimende Körner kältebehandelter Pflanzen liegen über denen der Kontrollen. Während der Eiweißgehalt der Kontrollpflanzen mit zunehmendem Alter kontinuierlich leicht ansteigt, lassen sich bei den vernalisierten Pflanzen zwei Konzentrationsmaxima erkennen: in keimenden Körnern und zwischen dem 23. und 28. Entwicklungstag. Zu Beginn der Schoßphase weisen die vernalisierten Pflanzen einen geringeren Eiweißgehalt auf als die Kontrollen.

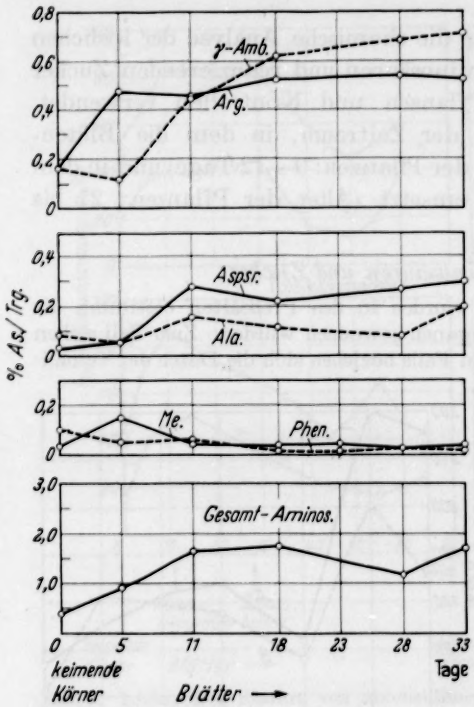


Abb. 7. Das Verhalten der freien Aminosäuren und deren Gesamtkonzentration bei Kontrollpflanzen im Verlaufe der Entwicklung. Angegeben in Prozent des Trockengewichtes

Aminosäuren. Die Veränderungen der freien Aminosäuren im Laufe der Entwicklung der Kontrollen sind in Abb. 7, die der vernalisierten Exemplare in Abb. 8 dargestellt.

Der Aminosäurengehalt der Körner beider Serien ist prak-

Tabelle 4. *Die Absolutwerte (in % des Trockengewichtes) der Proteinfraktionen A und B, sowie des Gesamtproteins von vernalisierten Pflanzen und Kontrollen während ihrer Entwicklung*

(Der Gesamteiweißgehalt ist in einigen Fällen aus den Fraktionen *A*, *B* und *C* errechnet.)

Art des Materials	Fraktion	Keimende Körner, Alter der Pflanzen in Tagen								
		0	5	9	11	13	18	23	28	33
Vernalisiert	*A*	1,5	5,8	3,5	3,3	3,2	3,2	4,8	2,9	2,1
	B	0,8	4,0	1,1	1,3	1,4	1,9	2,2	2,8	1,3
	Gesamt	3,0	11,4	4,6	4,6	4,6	5,1	7,0	6,8	4,8
Nicht vernalisiert	*A*	0,7	2,1		3,8		2,4	3,8	2,8	3,1
	B	0,6	2,0		1,4		1,7	1,9	2,2	2,4
	Gesamt	1,4	5,5		5,6		4,4	5,7	7,9	7,0

tisch gleich. Die Menge der Gesamtaminosäuren liegt bei den Kontrollen im Durchschnitt über dem Wert der vernalisierten Pflanzen. Die Konzentration sämtlicher Aminosäurenfraktionen und, entsprechend auch der Gesamtaminosäuren, hat bei den Kontrollpflanzen nach 11 Tagen (3-Blattstadium) den Wert erreicht, der während der rein vegetativen Entwicklung dieser Exemplare praktisch unverändert bleibt (Abb. 7).

Bei der vernalisierten Gerste (Abb. 8) nimmt die Konzentration der Gesamtaminosäuren ebenfalls bis zum 11. Tag zunächst zu. Während der Gesamtaminosäurenspiegel nach der Anlage der Blütenprimordien (11. Entwicklungstag) leicht erniedrigt ist, setzt beim Schoßbeginn eine starke Erhöhung der Aminosäurenkonzentration ein. Deutlicher sind die Konzentrationsänderungen einiger Fraktionen im Laufe der Entwicklung ausgeprägt. Eine Ausnahme bilden die Methionin- und Phenylalaninfraktion, die in dem untersuchten Zeitraum keinerlei Schwankungen aufweisen.

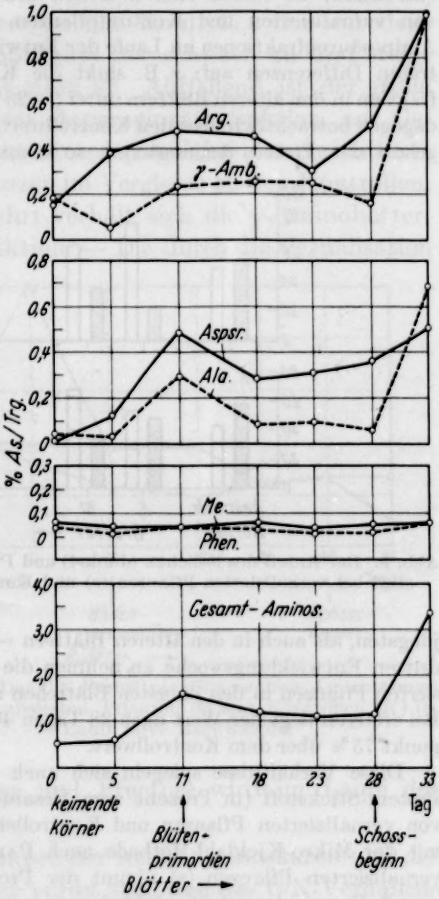


Abb. 8. Die Veränderungen der freien Aminosäuren und deren Gesamtkonzentration während der Entwicklung vernalisierter Gerste. Angegeben in Prozent des Trockengewichtes

Typisch ist für die Kontrollexemplare der hohe Anteil der γ-Aminobuttersäurefraktion an der Gesamtaminosäurenmenge, dem eine relativ geringe Konzentration der Asparaginfraktion gegenübersteht. Umgekehrte Verhältnisse liegen bei den vernalisierten Pflanzen vor: bei diesen ist die Konzentration der γ-Aminobuttersäurefraktion zugunsten der Asparaginsäurefraktion erniedrigt.

Die Veränderungen der in Isopropanol löslichen Aminosäuren während der Entwicklung stimmen etwa mit denen der aus Preßsäften gewonnenen Aminosäuren überein. Ihr Gesamtgehalt ist bei 6 Tage alten vernalisierten Pflanzen gegenüber den Kontrollen erhöht. In den noch nicht makroskopisch sichtbaren, d. h. den Vegetationspunkt unmittelbar einhüllenden Blättchen (einschließlich

des Vegetationspunktes selbst) ist die Konzentration der Aminosäuren nach 4 Wochen (Schoßbeginn) unter den Kontrollwert abgesunken (—20%), während in den älteren, aber noch wachsenden Blättern die Konzentration der löslichen Aminosäuren zu diesem Zeitpunkt den Kontrollwert übersteigt (+25%).

Berücksichtigt man die Eiweiß-Hydrolysate des Rückstandes der Isopropanolextraktion, so lassen sich zwischen den jüngsten Blättchen und den älteren von vernalisierten und Kontrollpflanzen zunächst wenig Unterschiede bei den Aminosäurenfraktionen im Laufe der Entwicklung feststellen. Erst nach 4 Wochen treten Differenzen auf: z.B. sinkt die Konzentration der γ-Aminobuttersäurefraktion in den älteren Blättern unter (—25%) und steigt in den jüngsten Blättchen dagegen beträchtlich über den Kontrollwert (+50%). Berechnet man den Gesamtgehalt der Protein-Aminosäuren, so stimmen diese zunächst — sowohl in den

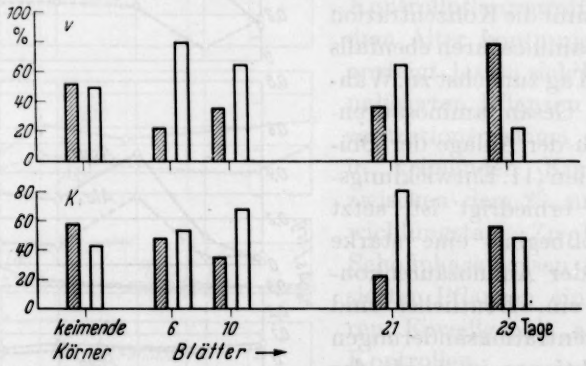


Abb. 9. Der Anteil des löslichen (dunkel) und Protein-Stickstoffes (hell) vom Gesamtstickstoff bei vernalisierten Pflanzen (v) und Kontrollen (K) im Laufe der Entwicklung

jüngsten, als auch in den älteren Blättern — mit den Kontrollen überein. Von der dritten Entwicklungswoche an nehmen die Protein-Aminosäuren bei den vernalisierten Pflanzen in den jüngsten Blättchen ab, in den älteren Blättern dagegen zu. Bei ersteren liegt der Wert nach 28 Tagen 40% unter, bei letzteren zu diesem Zeitpunkt 75% über dem Kontrollwert.

Diese Verhältnisse spiegeln sich auch in der Verteilung von löslichem und Protein-Stickstoff (in Prozent vom Gesamtstickstoff) in den jüngsten Blättchen von vernalisierten Pflanzen und Kontrollen wieder (Abb. 9). Die Werte wurden mit der Mikro-Kjeldahl-Methode nach PARNAS u. WAGNER gewonnen. Bei den vernalisierten Pflanzen (v) nimmt der Protein-Stickstoff zunächst wohl zu (bis zum 6. Entwicklungstag), sinkt dann aber stark ab. Dafür ist zum Schoßbeginn (28. Entwicklungstag) die anfänglich niedrige Konzentration des löslichen Stickstoffes stark erhöht.

Reduzierende Zucker. Die Glucosekonzentration vernalisierter Körner ist nach der Kältebehandlung gegenüber den Kontrollen um das Doppelte erhöht. Sie sinkt allmählich im Laufe der Entwicklung ab, erreicht zum Schoßbeginn (Pflanzen 28 Tage alt) die Kontrollen und fällt während des Schossens sogar ein wenig unter den Kontrollwert ab.

Die Fructose verhält sich ähnlich (Abb. 10). Ihre Konzentration ist in den 5 Tage alten Keimlingen sehr hoch und fällt bis zum 20. Tag steil bis auf den Kontrollwert ab. Während der beginnenden Schoßphase

ist der Fructosegehalt in den vernalisierten Pflanzen etwas niedriger als in den gleichaltrigen Kontrollen.

Zusammenfassend ergibt sich, daß der nach der Vernalisation stark erhöhte Eiweißgehalt der Pflanzen im Laufe der Entwicklung beträchtlich abfällt, besonders in der Schoßphase. — Der Gesamtaminosäurengehalt ist nach der Kältebehandlung gegenüber den Kontrollen nur unbedeutend erhöht, nimmt bis zum Schoßbeginn nur schwach zu und steigt nunmehr stark an. Auffallend ist der große Anteil der Asparaginsäurefraktion am Gesamtaminosäurenspiegel bei den vernalisierten Pflanzen im Vergleich zu den Kontrollen. Umgekehrt verhält sich die γ-Aminobuttersäurefraktion. — Die durch die Vernalisation

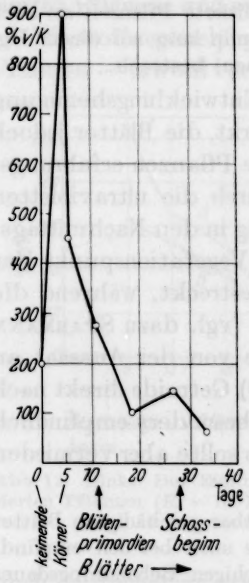


Abb. 10. Die Schwankungen des Fructosespiegels vernalisierter Pflanzen (K = 100)

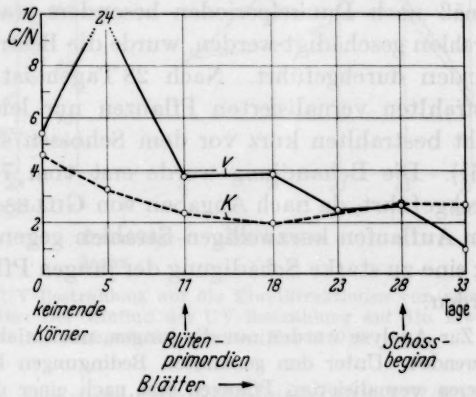


Abb. 11. Das C/N-Verhältnis (Glucose/freie Aminosäuren) von vernalisierten Pflanzen (v) und Kontrollen (K) im Laufe ihrer Entwicklung

erhöhte Konzentration an Glucose und Fructose wird im Laufe der Entwicklung wesentlich erniedrigt.

Aus den Konzentrationsänderungen der freien Aminosäuren und der Glucose der reproduktiven Pflanzen ergibt sich, daß das C/N-Verhältnis (Glucose/Aminosäuren) in den Keimlingen zunächst stark ansteigt und dann bis zur Anlage der ersten Blütenprimordien (11. Entwicklungstag) beträchtlich abfällt (Abb. 11). Von diesem Zeitpunkt an wird es im Laufe der weiteren Entwicklung kontinuierlich schwach verringert. In den nicht kältebehandelten Pflanzen ist das C/N-Verhältnis geringer als in den vernalisierten, außer während der beginnenden Schoßphase der reproduktiven Exemplare. Während der Keimung steigt es, im Gegensatz zu den kältebehandelten Keimlingen nicht an, sondern sinkt bis zum 18. Entwicklungstag kontinuierlich ab, um dann schwach anzusteigen.

Teil III

Der Einfluß der UV-Bestrahlung auf den Stoffwechsel der Gerste

Neben der sich normal entwickelnden kälteinduzierten Gerste wurde ein Teil der Pflanzen mit ultraviolettem Licht bestrahlt und stoffwechselphysiologisch untersucht. Nach entsprechenden Vorversuchen (SPARMANN 1961) wird die Blütenbildung der Gerste durch Bestrahlung mit UV-Licht gehemmt.

Für die Bestrahlungsversuche wurden sowohl vernalisierte Pflanzen als auch Kontrollen verwendet. Die Pflanzen wurden täglich 6 min lang mit einem Hg-Hochdruckbrenner S700 (Quarzlampengesellschaft, Hanau) bestrahlt.

Diese Dosis wurde gewählt, weil sie deutliche Entwicklungshemmung vor allem bei den kältebehandelten Pflanzen bewirkt, die Blätter jedoch noch nicht übermäßig geschädigt werden. Da die Pflanzen erfahrungsgemäß nach Dunkelperioden besonders stark durch die ultravioletten Strahlen geschädigt werden, wurde die Bestrahlung in den Nachmittagsstunden durchgeführt. Nach 28 Tagen ist der Vegetationspunkt der bestrahlten vernalisierten Pflanzen nur leicht gestreckt, während die nicht bestrahlten kurz vor dem Schossen stehen (vgl. dazu SPARMANN 1961). Die Behandlung wurde erst vom 7. Tage von der Aussaat an durchgeführt, da nach Angaben von GILLES (1939) Getreide direkt nach dem Auflaufen kurzwelligen Strahlen gegenüber besonders empfindlich ist; eine zu starke Schädigung der jungen Pflanzen sollte aber vermieden werden.

Zur Analyse wurden nur die jungen, noch nicht sichtbar geschädigten Blätter verwendet. Unter den genannten Bedingungen kam es auch bei den empfindlicheren vernalisierten Pflanzen erst nach einer dreiwöchigen Behandlungsdauer zu einem Vergilben der alten Blätter. Die Untersuchungen an bestrahlten vernalisierten Pflanzen wurden deshalb zu diesem Zeitpunkt abgebrochen.

Tabelle 5. *Die Absolutwerte (in % des Trockengewichtes) der Proteinfraktionen A und B, sowie des Gesamtproteins von bestrahlter vernalisierter Gerste und bestrahlten Kontrollen*

Der Gesamteiweißgehalt ist in einigen Fällen aus den Fraktionen *A*, *B* und *C* errechnet.

Art des Materials		Alter der Pflanzen in Tagen						
		9	11	13	18	23	28	33
		Bestrahlungsdauer in Tagen						
		2	4	6	11	16	21	26
Vernalisiert	Fraktion *A*	4,4	3,8	3,4	2,4	1,3	22,2	
	Fraktion *B*	2,3	2,1	1,8	2,0	0,9	1,0	
	Gesamtprotein	6,7	6,0	5,2	5,8	2,2	3,2	
Nicht vernalisiert	Fraktion *A*		3,1		3,3		3,6	1,8
	Fraktion *B*		1,4		1,6	2,2	2,7	1,2
	Gesamtprotein		4,6		5,1		7,1	4,5

Die Eiweiße, Aminosäuren und Zucker wurden quantitativ papierchromatographisch bzw. -elektrophoretisch im Preßsaft bestimmt. In den meisten Fällen sind der Übersichtlichkeit wegen Relativwerte angegeben (Analysendaten bestrahlter vernalisierter und nicht kältebehandelter Exemplare im Vergleich zu den entsprechenden Werten nicht bestrahlter Pflanzen, die gleich 100 gesetzt wurden, = % UV/K).

Eiweiß. Die UV-Bestrahlung hat einen starken Einfluß auf die einzelnen elektrophoretisch gewonnenen Eiweißkomponenten der vernalisierten Pflanzen und somit auch auf den Gesamteiweißspiegel (Tabelle 5).

Die stoffwechselphysiologischen Unterschiede zu den nicht bestrahlten Pflanzen — sowohl vernalisierten als auch nicht kältebehandelten — sind

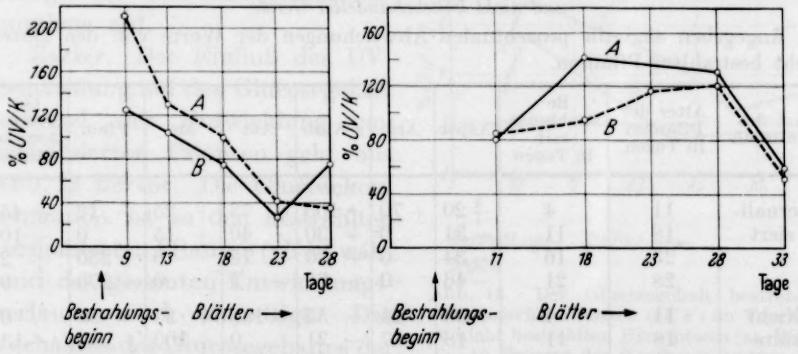


Abb. 12. Links: Der Einfluß der UV-Bestrahlung auf die Eiweißfraktionen von vernalisierten Pflanzen (K = 100). Rechts: Der Einfluß der UV-Bestrahlung auf die Eiweißkomponenten nicht kältebehandelter Gerste (K = 100)

noch deutlicher zu erkennen, wenn man die Relativwerte (% UV/K) betrachtet. In Abb. 12 (links) sind diese Verhältnisse für vernalisierte Pflanzen dargestellt. Die Konzentration der Fraktion A ist schon kurz nach Behandlungsbeginn beträchtlich erhöht. Der Wert von Fraktion B dagegen liegt nur wenig über den entsprechenden unbestrahlten Pflanzen. Die Konzentration beider Komponenten sinkt infolge der Bestrahlung kontinuierlich stark ab. Dabei erreicht die Fraktion A den Wert der entsprechenden unbestrahlten Pflanzen nach 18, Fraktion B bereits nach 13 Tagen. Auffallend ist, daß mit länger dauernder Bestrahlung der Pflanzen der Gehalt an der Fraktion B schneller und stärker abnimmt als der an Fraktion A.

Der Proteingehalt nicht kältebehandelter, mit UV-Licht bestrahlter Gerste im Entwicklungsverlauf der Pflanzen geht aus Abb. 12 (rechts) hervor. In den ersten 4 Tagen der Bestrahlung wird bei diesen Pflanzen der Eiweißspiegel erniedrigt. Nach einem Anstieg auf den Wert nicht bestrahlter Exemplare bis zum 18. Tag sinkt er nahezu auf seinen Ausgangswert ab. Die Fraktionen A und B verhalten sich etwa gleich, vor allem gegen Versuchsende (Abb. 12). Vergleicht man Fraktion A dieser

Pflanzen mit der gleichen Fraktion von bestrahlten vernalisierten, so zeigt sich, daß die kurzwelligen Strahlen auf diese Eiweißkomponente offenbar bei den erstgenannten Pflanzen weniger stark einwirken (Tabelle 5).

Aminosäuren. Die durch die UV-Bestrahlung bedingten Veränderungen im Aminosäurengehalt bei vernalisierten Pflanzen und Kontrollen sind in Tabelle 6 zusammengefaßt. Es sind die prozentualen Abweichungen von den Daten nicht bestrahlter Exemplare (vernalisiert bzw. nicht vernalisiert) angegeben, deren Absolutwerte aus Abb. 7

Tabelle 6. *Der Einfluß der UV-Bestrahlung auf den Aminosäurengehalt vernalisierter und nicht kältebehandelter Gerste*

Angegeben sind die prozentualen Abweichungen der Werte von den Daten nicht bestrahlter Pflanzen.

Art des Materials	Alter der Pflanzen in Tagen	Bestrahlungszeit in Tagen	Aspsr	Arg	γ-Amb	Ala	Me	Phen	Gesamt-Aminosäuren
Vernalisiert	11	4	−20	+70	+100	+ 73	+ 25	− 12	+45
	18	11	−31	0	+ 30	− 40	+ 15	0	+10
	23	16	−34	0	+ 30	− 10	0	+250	+ 2
	28	21	−46	0	+ 60	− 2	· 0	+270	0
Nicht kältebehandelt	11	4	+33	+24	− 55	+180	+ 20	− 50	0
	18	11	+18	−17	− 31	0	+100	+ 50	−13
	23	16	+13	+ 3	− 11	0	+ 97	+ 50	− 4
	28	21	+ 7	+13	+ 20	0	+ 87	+ 30	− 7
	33	26	0	− 3	+ 80	− 70	+ 25	− 53	−44

bzw. 8 entnommen werden können. Schon der Gesamtaminosäurengehalt vernalisierter und nicht kältebehandelter Pflanzen wird durch das UV-Licht verschieden beeinflußt: Bei der ersten Gruppe wird die Konzentration der Aminosäuren bereits nach viertägiger Bestrahlungsdauer beträchtlich erhöht, sinkt dann jedoch im Laufe des Versuches (28 Tage) auf den Kontrollwert ab. Bei der nicht kältebehandelten Gerste bleibt die Bestrahlung zunächst ohne Einfluß auf den Aminosäurengehalt, bewirkt jedoch bald eine Abnahme unter den Wert der nicht bestrahlten Exemplare.

Auffällig ist bei den bestrahlten vernalisierten Pflanzen, daß die Aminosäurenfraktionen Arginin, γ-Aminobuttersäure, Alanin und Methionin zu Beginn des Versuches zum Teil stark zunehmen, im Laufe der weiteren Entwicklung der Pflanzen jedoch teilweise auf den Kontrollwert abfallen (Arginin, Methionin), während die Alaningruppe diesen Wert unterschreitet und die γ-Aminobuttersäurefraktion stets gegenüber unbestrahlter vernalisierter Gerste in ihrer Konzentration erhöht bleibt. Die Asparaginsäure- und Phenylalaninfraktion weisen zunächst einen niedrigeren Wert auf als die unbestrahlten vernalisierten Pflanzen.

Während die Stärke der Phenylalaningruppe im Laufe des Versuches sehr stark ansteigt, nimmt die Konzentration der Asparaginsäurefraktion stetig ab.

Entsprechend verhält sich die Asparaginsäurefraktion auch bei den bestrahlten, nicht kältebehandelten Pflanzen, mit dem Unterschied allerdings, daß sie stets über dem Kontrollwert liegt. Ähnlichkeit besteht auch in der Konzentrationsänderung der Alaninfraktion beider Serien. Der Gehalt an γ-Aminobuttersäure nimmt bei der bestrahlten nicht vernalisierten Gerste kontinuierlich zu. Die Methionin- und Phenylalaninfraktion weisen nur vorübergehend eine Konzentrationszunahme auf.

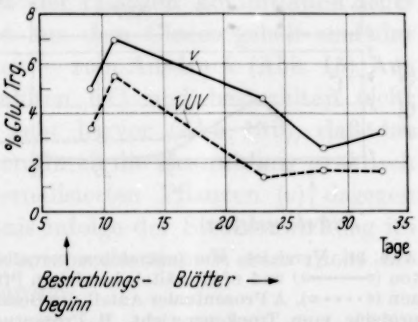


Abb. 13. Der Glucosegehalt bestrahlter vernalisierter Pflanzen (vUV) im Vergleich zu nicht bestrahlten Exemplaren (v). Werte in Prozent des Trockengewichtes

Zucker. Der Einfluß der UV-Bestrahlung auf den Glucosegehalt während der Entwicklung von vernalisierten Pflanzen geht aus Abb. 13 hervor. Die Glucosekonzentration ist in den bestrahlten vernalisierten Pflanzen (vUV) während des gesamten Entwicklungsverlaufes stark erniedrigt. Das Verhältnis des Glucosegehaltes der unbestrahlten (v) zu dem der bestrahlten kältebehandelten Pflanzen (vUV) bleibt während des Versuches nahezu konstant. Während der Glucosespiegel von ersteren vom 28. Entwicklungstag an (Schoßbeginn) wieder schwach ansteigt, bleibt er bei den bestrahlten Pflanzen, die nicht zum Schossen kommen, vom 23. Entwicklungstag an etwa konstant.

Anders reagiert nicht vernalisierte Gerste auf die Bestrahlung. Ihr Glucosegehalt liegt nach dem Bestrahlungsbeginn zunächst über dem Kontrollwert und sinkt dann langsam unter den Glucosegehalt der unbestrahlten Pflanzen ab.

Der Fructosegehalt wird durch die kurzwelligen Strahlen ebenfalls vermindert und zwar in besonderem Maße bei den vernalisierten Exemplaren.

Trockengewicht. Auffallend ist der unterschiedliche Trockensubstanzgehalt bei den bestrahlten vernalisierten und nicht vernalisierten Pflanzen. Er steigt bei den kältebehandelten Exemplaren im Laufe der Entwicklung kontinuierlich an und liegt nach 28 Tagen um 60% über dem entsprechenden Kontrollwert. Das Trockengewicht der bestrahlten nicht kältebehandelten Gerste ist 4 Tage nach Bestrahlungsbeginn um 20% erhöht, sinkt schnell (11. Tag) auf den Wert der nicht bestrahlten nicht vernalisierten Pflanzen ab und bleibt weiterhin unverändert.

Aus den Versuchen über den Einfluß der UV-Bestrahlung auf den Stoffwechsel geht hervor, daß sich vernalisierte und nicht kältebehandelte Gerste verschieden verhalten. Das ultraviolette Licht bewirkt bei diesen physiologisch andersartigen Pflanzen auch deutlich unterschiedliche chemische Reaktionen. Einige charakteristische Beispiele dafür sind nochmals in Abb. 14 wiedergegeben.

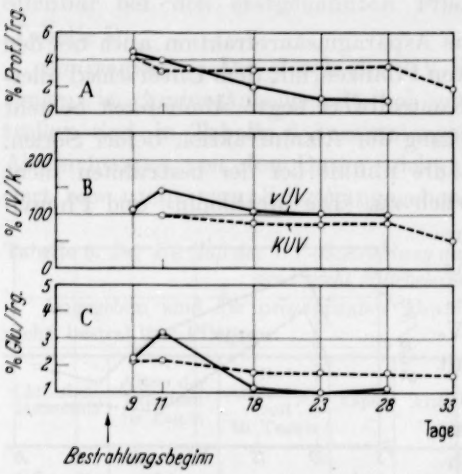


Abb. 14. Vergleich von bestrahlten vernalisierten (o———o) und nicht kältebehandelten Pflanzen (o- - - -o). A Prozentualer Anteil der Gesamtproteine vom Trockengewicht. B Prozentualer Anteil der Gesamtaminosäuren der bestrahlten Pflanzen zu den entsprechenden nicht bestrahlten Kontrollen. C Glucosegehalt in Prozent des Trockengewichtes

So nimmt der Eiweißgehalt (Abb. 14 A) bei den bestrahlten vernalisierten Pflanzen kontinuierlich ab, während er bei den bestrahlten, jedoch nicht kältebehandelten Exemplaren im Laufe der Entwicklung nahezu konstant bleibt und über dem Wert der bestrahlten vernalisierten Pflanzen liegt.

Ähnlich wie der Gesamteiweißgehalt verhält sich der Aminosäurenspiegel der bestrahlten vernalisierten Gerste (Abb. 14 B). Er sinkt im Laufe des Versuches von einem, gegenüber den unbestrahlten Pflanzen erhöhten Wert (45%) auf den Aminosäurengehalt der nicht bestrahlten, vernalisierten Pflanzen ab. Die Konzentration der Gesamtaminosäuren von nicht vernalisierter Gerste sinkt infolge der Bestrahlung zwar ebenfalls kontinuierlich ab, liegt aber — außer nach viertägiger Bestrahlung — unter dem der entsprechenden nicht bestrahlten Exemplare. Besonders auffällig ist die Konzentrationsabnahme der Asparaginsäurefraktion und eine Erhöhung der γ-Aminobuttersäurefraktion bei den bestrahlten vernalisierten Pflanzen im Vergleich zu

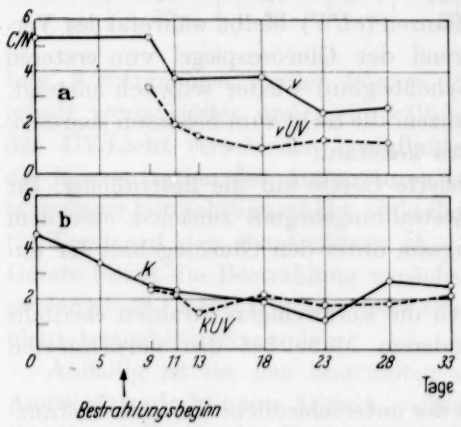


Abb. 15. a Das C/N-Verhältnis von bestrahlten vernalisierten (vUV) und nicht bestrahlten vernalisierten Pflanzen (v), sowie b von bestrahlten (KUV) und nicht bestrahlten Kontrollen (K)

den entsprechenden nicht bestrahlten Exemplaren. Somit wird eine ähnliche Verteilung der Hauptgruppen an der Gesamtmenge der freien Aminosäuren erreicht, wie sie bei den nicht bestrahlten vegetativen Pflanzen vorliegt.

Während der Glucosegehalt bei den bestrahlten vernalisierten Pflanzen nach längerer UV-Einwirkung merklich erniedrigt ist, bleibt er bei den bestrahlten und nicht kältebehandelten Exemplaren nahezu konstant (Abb. 14, C). Er ist bei diesen Pflanzen höher als bei den bestrahlten vernalisierten.

Die verschiedene Reaktionsweise der Pflanzen kommt auch deutlich im C/N-Verhältnis — errechnet aus dem Glucosegehalt und der Konzentration der freien Aminosäuren — zum Ausdruck (Abb. 15). Aus einem Vergleich zwischen unbestrahlten (*K*) und bestrahlten nicht kältebehandelten Pflanzen (*KUV*) geht hervor (Abb. 15b), daß das C/N-Verhältnis bei diesen Exemplaren durch die Bestrahlung praktisch nicht verändert wird. Bei den vernalisierten Pflanzen (*v*) dagegen (Abb. 15a) beträgt das C/N-Verhältnis infolge der Strahlenwirkung im Durchschnitt nur 50% (*vUV*) des entsprechenden Wertes nicht bestrahlter blühgestimmter Gerstenpflanzen.

Besprechung der Ergebnisse

In den vorliegenden Untersuchungen an der Gerste konnten charakteristische quantitative biochemische Veränderungen während der Blüheinduktion durch tiefe Temperaturen und zu Beginn des zweiten Abschnittes der reproduktiven Entwicklung, des Schossens, nachgewiesen werden.

Die durch die Vernalisation bedingte Erhöhung der Konzentration der löslichen Proteine stimmt mit den Befunden verschiedener russischer Autoren an Weizen überein. Während Konowalow u. Rogalew (1937) die Konzentrationserhöhung der löslichen Proteine auf eine verstärkte Synthese zurückführen, vermuten Konowalow u. Popowa sowie Nilowa u. Pawlenko (1940), daß es sich dabei um die Folge einer erhöhten Hydrolyse hochmolekularer unlöslicher Eiweiße zu niedermolekulareren Proteinen handelt. Bekanntlich werden durch die Vernalisation vor allem die hydrolytischen Prozesse verstärkt (Sammelreferat: Dupéron 1951, Borriss 1952). So erscheint auch die Annahme berechtigt, daß während der thermischen Induktion ein Umbau der Proteine erfolgen könnte und diese sich bei vernalisierten und nicht vernalisierten Pflanzen qualitativ unterscheiden.

Da bei der Gerste während der Vernalisation zunächst die Konzentration der löslichen Eiweiße absinkt, die der freien Aminosäuren dagegen ansteigt, scheint als erste Folge der Kälteeinwirkung eine verstärkte Proteinhydrolyse stattzufinden. Zum Abschluß der erfolgreichen Vernalisation könnte dagegen eine erhöhte Synthese der löslichen

Eiweiße überwiegen, da nunmehr der Eiweißgehalt ansteigt. Mit dem Einsetzen des Schossens scheinen sich diese Verhältnisse bei der Gerste erneut umzukehren, da jetzt die Konzentration der Eiweiße absinkt, die der Aminosäuren dagegen stark ansteigt. Vergleicht man den Eiweiß- und Aminosäurengehalt dieser blühinduzierten Pflanzen mit dem entsprechender vegetativer Kontrollen, so wird besonders deutlich, daß zwischen Eiweiß- und Aminosäurenstoffwechsel einerseits und der Blütenbildung andererseits ein enger Zusammenhang zu bestehen scheint.

Nicht nur die Stickstoffkomponenten der Gerste erleiden durch die Vernalisation Konzentrationsänderungen, sondern auch die Kohlenhydrate. Nach den Angaben verschiedener Autoren (MIKHAILOWA 1949; DUPÉRON 1951, 1953; AUGSTEN 1956), sowie nach den vorliegenden Untersuchungen kommt es durch die Kältebehandlung zu einem Konzentrationsanstieg der reduzierenden Zucker. Es ist jedoch nicht eindeutig zu entscheiden, ob es sich dabei um eine unspezifische Kältewirkung oder um eine spezifische Folge der durch den Vernalisationsvorgang bedingten biochemischen Prozesse handelt (vgl. dazu: MIKHAILOWA 1949). Zucker wirkt auf jeden Fall beschleunigend auf die Blütenbildung (PURVIS 1944).

Diese Ergebnisse bilden eine neue Stütze für die Klebssche Hypothese. KLEBS hat bereits 1904 darauf hingewiesen, daß ein bestimmtes Verhältnis zwischen Kohlenhydraten und stickstoffhaltigen Komponenten für den Übergang der Pflanzen in die reproduktive Entwicklungsphase entscheidend ist.

Bei der Gerste wird durch die Vernalisation das C/N-Verhältnis — errechnet aus der Konzentration der reduzierenden Zucker und der freien Aminosäuren — in charakteristischer Weise verändert (s. Abb. 4), d.h. blühgestimmte Pflanzen weisen ein im Klebsschen Sinne erhöhtes Kohlenhydrat/Stickstoff-Verhältnis auf. Es besteht demnach tatsächlich eine Korrelation zwischen Blütenbildung und C/N-Verhältnis.

Das geht auch indirekt aus den UV-Bestrahlungsversuchen hervor: Bestrahlung mit UV-Licht in geeigneten Dosen bewirkt bei der Gerste eine Blühhemmung. Gleichzeitig kommt es zu einer Reduktion des Kohlenhydrat/Stickstoff-Verhältnisses, d. h. das C/N-Verhältnis der bestrahlten vernalisierten Pflanzen ist dem der nicht bestrahlten und nicht kältevorbehandelten Kontrollpflanzen ähnlich (s. Abb. 15).

Beim Einsetzen des Schossens, also beim Eintritt der Pflanzen in die *zweite* Phase der reproduktiven Entwicklung, lassen sich, wie wir gesehen haben, ebenfalls eigene charakteristische stoffliche Veränderungen feststellen. Das deutet neben den morphologischen Befunden darauf hin, daß man offenbar zwischen den Prozessen, die zur *Blütenbildung* und jenen, die zum *Schossen* führen, wohl unterscheiden muß.

Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse

a) Methoden. Für die Zerlegung des löslichen Proteinkomplexes aus dem Preßsaft von Blättern und angekeimten Körnern wurde mit Hilfe der Hochspannungs-Papierelektrophorese ein Trennungsverfahren ausgearbeitet. Es wurden mehrere Eiweißfraktionen nachgewiesen und quantitativ bestimmt.

Die freien Aminosäuren und freien Zucker aus Blattpreßsäften wurden mit Hilfe der Papierchromatographie und Hochspannungs-Papierelektrophorese fraktioniert.

b) Quantitative Änderungen des Eiweiß-, Aminosäuren- und Zuckergehaltes während der Vernalisation der Gerste. Während der Vernalisation der Körner wird, nach einer vorübergehenden Verringerung, der Gehalt an löslichem Protein beträchtlich erhöht. Auffallend ist der hohe Anteil der Eiweißkomponente *C* gegen Ende der Kältebehandlung. Die Gesamtmenge der freien Aminosäuren verhält sich umgekehrt wie die der löslichen Proteine. Die Konzentration der freien reduzierenden Zucker wird durch die Kältebehandlung stark erhöht.

Bei genügend lange vernalisierten Körnern ergibt sich somit ein, gegenüber den Kontrollen, stark erhöhtes C/N-Verhältnis.

c) Quantitative Veränderungen der Eiweiße, Aminosäuren und Zucker beim Übergang zur Blütenbildung. Stoffliche Veränderungen während der Entwicklung von vernalisierten Pflanzen und Kontrollen sowie Unterschiede zwischen den vegetativen und reproduktiven Exemplaren lassen sich bereits durch den Einfluß der Extrakte auf das Wachstum von Kressewurzeln nachweisen.

Der durch die Vernalisation erhöhte Gehalt an löslichem Eiweiß sinkt während der Entwicklung der vernalisierten Pflanzen im Vergleich zu den Kontrollen stark ab, vor allem in der frühen Schoßphase. Die Konzentration der löslichen Aminosäuren nimmt bei den kältebehandelten Pflanzen zunächst wenig, beim Schoßbeginn jedoch beträchtlich zu, während sie im gleichen Untersuchungszeitraum bei vegetativen Kontrollexemplaren fast konstant bleibt. Der Anteil der Asparaginsäurefraktion vom Gesamtaminosäurengehalt ist bei vernalisierten Pflanzen verhältnismäßig hoch, der der γ-Aminobuttersäuregruppe dagegen niedrig. Umgekehrte Verhältnisse treffen für die Kontrollen zu.

Glucose und Fructose liegen nach der Vernalisation zunächst in hoher Konzentration vor. Der Gehalt an beiden Zuckern nimmt jedoch während der weiteren Entwicklung der Pflanzen ab und liegt zum Schoßbeginn etwas unter dem Kontrollwert.

Das aus dem Glucosegehalt und der Konzentration der freien Aminosäuren errechnete C/N-Verhältnis ist bei den vernalisierten Pflanzen im Vergleich zu den Kontrollen erhöht. Erst zum Schoßbeginn sinkt es unter die Kontrolle ab.

Demnach zeichnen sich Schossen und Blütenbildung durch *verschiedene* stoffliche Veränderungen aus.

d) Der Einfluß einer UV-Bestrahlung auf den Eiweiß-, Aminosäuren- und Zuckergehalt vernalisierter und nicht vernalisierter Gerste. Der Gehalt an löslichem Protein wird durch die UV-Bestrahlung der vernalisierten Gerste in den ersten Tagen zunächst erhöht, sinkt jedoch bald beträchtlich unter den Kontrollwert ab. Bei nicht kältebehandelten Exemplaren ist die Eiweißkonzentration, nach einer Abnahme bei Bestrahlungsbeginn, die gleiche wie bei den nicht bestrahlten Pflanzen; sie nimmt erst nach vierwöchiger Versuchsdauer langsam ab.

Eine längere Bestrahlung führt bei vernalisierten und Kontrollpflanzen zu einer Abnahme des Gehaltes an freien Aminosäuren. Während in den vernalisierten Exemplaren jedoch die Aminosäurenkonzentration zunächst erhöht ist, um dann auf den Kontrollwert abzusinken, bleibt sie bei nicht kältebehandelten Pflanzen erst unverändert und wird später stark verringert. Die einzelnen Aminosäurenfraktionen zeigen bei beiden Serien ein unterschiedliches Verhalten. Auffallend ist bei vernalisierten Pflanzen eine Verminderung der Asparaginsäurefraktion zugunsten der γ-Aminobuttersäurefraktion.

Die Glucosemenge wird infolge der UV-Einwirkung bei vernalisierter Gerste stark, bei den Kontrollen nur wenig verringert.

Das C/N-Verhältnis ist bei bestrahlten, vernalisierten Pflanzen erheblich reduziert und niedriger als in vegetativen Exemplaren. Die Bestrahlung hat keinen erheblichen Einfluß auf das C/N-Verhältnis der nicht kältebehandelten Exemplare.

Herrn Professor Dr. D. v. DENFFER gilt mein besonderer Dank für die Anregung zu dieser Arbeit und deren großzügige Unterstützung.

Literatur

Die mit * gekennzeichneten Arbeiten standen mir nicht im Original zur Verfügung. Ich zitiere sie nach: BORRISS, H.: Die physiologischen Grundlagen der Jarowisation. Die Deutsche Landwirtschaft, Sondernummer „Jarowisation" 1952.

AUGSTEN, H.: Fermentaktivität und Atmung bei Sommergerste nach Kältebehandlung des Saatgutes. Wissenschaftl. Abh. Nr 20. Berlin: Akademie-Verlag 1956.

BORRISS, H.: Die physiologischen Grundlagen der Jarowisation. Die Deutsche Landwirtschaft, Sondernummer „Jarowisation" 1952.

CONSDEN, R., and A. H. GORDON: Effect of salt on partition chromatograms. Nature (Lond.) **162**, 180—181 (1948).

DUPÉRON, R.: Débat sur la vernalization. Bull. Soc. bot. France, Mémoires 1951, p. 67—81.

— Influence de la vernalization sur le métabolisme. Rev. gén. Bot. **59**, 580—631 (1952).

— Influence de la vernalization sur le métabolisme. Rev. gén. Bot. **60**, 33—78, 90—122 (1953).

GILLES, E.: Effets des rayons ultra-violets sur les végétaux supérieurs. Rev. gén. Bot. **51**, 327 (1939).

GORDON, S. A., and R. P. WEBER: Colorimetric estimation of indoleacetic acid. Plant Physiol. **26**, 192—195 (1951).

HÄNSEL, H.: Vernalisation (Jarowisation, Kältestimmung). Forschungsergebnisse und ihre Verwertung in Pflanzenbau, Samenbau und Pflanzenzüchtung (Übersicht). Z. Pflanzenzücht. **32**, 233—274 (1953).

KLEBS, G.: Über Probleme der Entwicklung. III. Biol. Zbl. **24**, 545—559 (1904).

*KONOWALOW, J. H., u. T. M. POPOWA: Die Veränderung der synthetischen Fähigkeit der Pflanzen in Abhängigkeit von der vor der Aussaat erfolgten Samenjarowisation. C.R. Acad. Sci. URSS. **31** (1941).

—, u. J. E. ROGALEW: Das Verhalten der Stickstoffsubstanzen während der Jarowisation der Pflanzen. C.R. Acad. Sci. URSS. **16** (1937).

KORTÜM, G.: Kolorimetrie und Spektralphotometrie, 2. Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1948.

LEOPOLD, C. A., and F. S. GUERNSEY: Flower initiation in Alaska pea. I. Evidence as to the role of auxin. Amer. J. Bot. **40**, 46—50 (1953).

MCCOY, TH. A., TH. H. SUBLETT and V. W. DOBBS: The relation of the amino-acid composition to the development of oats. Plant Physiol. **28**, 77—88 (1953).

METZNER, H.: Unterschiede in der Eiweißfraktion bei Lang- und Kurztagexemplaren von *Kalanchoe blossfeldiana*. Nachr. Akad. Wiss. Göttingen **2b**, 19—22 (1954).

— Veränderungen der Blattproteine bei photoperiodischer Induktion. Planta (Berl.) **45**, 493—534 (1955).

*MIKHAILOWA, L. V.: Zur Frage des Stoffwechsels bei Pflanzen während des Jarowisationsstadiums. Dokl. Akad. Nauk SSSR. **64**, 857—860 (1949).

MOTHES, K., u. L. ENGELBRECHT: Über geschlechtsverschiedenen Stoffwechsel zweihäusiger einjähriger Pflanzen. I. Untersuchungen über den Stickstoffumsatz bei Hanf. Flora (Jena) **139**, 1—27 (1952).

*NILOWA, W., u. O. PAWLENKO: Veränderung der Richtung der Invertase-Wirkung an Blättern beim Wachstum und der Entwicklung der Pflanzen. Biochimija **5** (1940).

PARTRIDGE, S. M.: Filter-paper partition chromatography of sugars. I. General discription and application to the qualitative analysis of sugars in apple juice, egg white and foetal blood of sheep. Biochem. J. **42**, 238—248 (1948).

PURVIS, O. N.: Studies in vernalisation of cereals. VIII. The role of carbohydrate and nitrogen supply in the vernalisation of excised embryos of "Petkus" winter rye. Ann. Botany, N.S. **8**, 285—314 (1944).

REGGELIN, H.: Über Eiweißstoffe und Aminosäuren in Zuckerrübenzellsaft. Diss. Braunschweig 1953.

SCHNEIDER, G.: Biochemische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen zur Frage des Schossens und der Blütenbildung der Zuckerrübe. II. Mitt. Quantitative Veränderungen des Eiweiß-, Aminosäuren- und Zuckergehaltes während des Überganges in die reproduktive Entwicklung. Planta (Berl.) **56**, 322—347 (1961).

SCHNEIDER, G., u. G. SPARMANN: Über die Trennung von Pflanzenproteinen mit Hilfe der Hochspannungs-Papierelektrophorese. Naturwissenschaften **42**, 156 (1955).

SPARMANN, G.: Morphologische und physiologische Untersuchungen zur Blütenbildung der Gerste. I. Mitt. Planta (Berl.) **56**, 447—474 (1961).

VIRTANEN, A., and T. LAINE: Amino acid content of plants at different stages of growth. Nature (Lond.) **137**, 237 (1936).

Dr. GISELA SPARMANN,
z. Z. Northeim (Hann.), Wallstr. 1

Planta 57, 202—214 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

DIE AUSWIRKUNGEN VON MANGAN-MANGEL AUF WACHSTUM UND PHOTOSYNTHESE BEI DER BLAUALGE *ANACYSTIS NIDULANS**

Von

GERHARD RICHTER

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 21. Juni 1961)

Einleitung

Die Beteiligung von Mangan im Mechanismus der Photosynthese kann auf Grund der bisher durchgeführten Untersuchungen als gesichert angesehen werden (Zusammenfassung bei PIRSON 1958). Im Gegensatz zu anderen Spurenelementen war es möglich, ihm dabei direkte Funktionen bei einzelnen Teilreaktionen zuzuweisen. So konnte KESSLER (1955, 1957) in überzeugender Weise bei *Ankistrodesmus* zeigen, daß Mangan seine Hauptwirkung im sauerstoff-entwickelnden System der Photosynthese entfaltet, indem er die Mangan-Abhängigkeit von Photosynthese und Photoreduktion, einem sauerstofflosen Spezialtyp der Photosynthese, verglich. Er fand für Mangan-Mangelzellen nur eine Hemmung der ersteren.

Wie aus Untersuchungen an Purpurbakterien (Athiorhodaceen) hervorgeht (WIESSNER 1960), zeigen diese eine gewisse Ähnlichkeit mit Grünalgen, welche sich auf anaerobe Photoreduktion umstellen lassen; sie besitzen nämlich im Vergleich zu autotroph ernährten Zellen von *Chlorella* und *Ankistrodesmus* einen sehr viel geringeren Manganbedarf.

Die Einbeziehung einer Blaualge, *Anacystis nidulans*, in diese vergleichend biochemischen Untersuchungen erschien wünschenswert, weil dieser Organismus auf Grund seiner strikten Photo-Autotrophie (KRATZ und MYERS 1955) einen abweichenden Stoffwechseltyp verkörpert. Dieser findet neben weitgehender Unfähigkeit zur Aufnahme exogenen organischen Substrats seinen Ausdruck in der Enzymgarnitur und damit in den Reaktionen der photosynthetischen CO_2-Reduktion (RICHTER 1959, 1961). Daß auch für diese eine Beteiligung von Mangan in Betracht

* Diese Untersuchungen wurden in den Research Institutes (Fels Fund) der University of Chicago durchgeführt. Prof. HANS GAFFRON, Mrs. C. GAFFRON, Dr. NORMAN BISHOP, Dr. MARY STILLER, Mr. HANS TROLL und Ms. MARLENE ROEDER sei an dieser Stelle für ihre freundliche Hilfe gedankt. Für finanzielle Unterstützung gebührt mein Dank der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Fels Fund und dem Office of Naval Research [Contract No. NONR-432(00)].

zu ziehen ist, geht aus neueren Untersuchungen an *Chlorella* von TANNER u. Mitarb. (1960) hervor. Der größte Teil dieser Untersuchungen diente daher der Klärung der Frage, ob dem Mangan eine entsprechende Funktion bei *Anacystis* zukommt.

Methodik

Versuchsmaterial. Der für diese Untersuchungen verwendete Stamm von *Anacystis nidulans* war ursprünglich von KRATZ und ALLEN isoliert worden; eine Kultur desselben wurde uns freundlicherweise von Prof. JACK MYERS, University of Texas, überlassen.

Die Anzucht erfolgte steril im Dauerlicht weißer Leuchtstoffröhren von 2000 Lux in dem von KRATZ und MYERS (1955) angegebenen Kulturmedium (Kombination „D"; „A_5"-Spurenelementmischung). Das Mangelmedium enthielt kein $MnCl_2$; die Spuren von Mangan in den übrigen Salzen waren für ein langsames Wachstum der Algen zunächst ausreichend. Es wurde in Belüftungskolben und in zylindrischen Glasröhren (250 bzw. 500 ml Flüssigkeit) kultiviert; das Gasgemisch (Luft mit 4% CO_2) wurde bei den letzteren von unten eingeleitet. Zur Erzielung einer konstanten Anzuchttemperatur von 38° C befanden sich die Gefäße in einem (beleuchteten) Thermostaten. Für vergleichende Untersuchungen wurden gleich große Zellmengen (50—100 mm^3 Naßvolumen), welche in manganfreie Nährlösung suspendiert waren, in gleichgroße Volumina Normal- und Mangelmedium eingeimpft. Das Naßvolumen der Algen wurde mittels Zentrifugation (30 min bei etwa 2000 g) in „Cytocrit"-Röhrchen bestimmt.

Pigmentbestimmungen. Zur quantitativen Extraktion von Chlorophyll und Carotinoiden wurden die Zellen zweimal für 5 min mit 80% Aceton behandelt; darauf abzentrifugiert, in Wasser suspendiert und durch eine zweistündige Ultraschall-Behandlung (Raytheon 9 kc-Generator) aufgeschlossen. Zentrifugation der Suspension bei 18000 g in einer Winkelkopf-Zentrifuge (Servall) ergab einen partikelfreien, tiefblauen Überstand. Die Absorptionsmessungen der Pigmentextrakte erfolgten im Beckman-Spektralphotometer (Modell DU); zur Berechnung der Absolutmengen dienten folgende spezifischen Absorptionskoeffizienten: Chlorophyll a, $\alpha = 82{,}04$ bei 663 mμ; Totalcarotinoide, $\alpha = 200$ bei 460 mμ (beide Werte für 80% Aceton, nach MACKINNEY 1941); Phycocyan, $\alpha = 7{,}9$ bei 618 mμ (für Wasser, nach SVEDBERG und KATSURAI 1929).

RNS-Bestimmung. Es wurde die Methode von OGUR und ROSEN (1950) benutzt; die Extraktionszeit mit 1,0 n $HClO_4$ betrug 16 Std.

Photosynthese-Messungen erfolgten auf zwei Arten: 1. manometrisch nach der Technik von GAFFRON und ROSENBERG (1955), bei welcher der gebildete Sauerstoff mit Wasserstoff mittels eines Palladium-Katalysators zur Reaktion gebracht wird (vgl. hierzu BISHOP und GAFFRON 1958); 2. anhand der $^{14}CO_2$-Fixierung im Licht: die abzentrifugierten Algen wurden zwecks Anreicherung in einem kleinen Volumen (max. 120 ml) der ursprünglichen Nährlösung aufgenommen, die Suspension darauf in eine flache Belichtungszelle („Lollipop") überführt; ihre Breitseiten bestanden aus Glas, ein basaler Auslaßmechanismus gestattete die Entnahme gleich großer Proben während des Experiments; ein kleiner motorgetriebener Rührer sorgte für eine ständige Durchmischung der Suspension. Durch Hindurchleiten von temperiertem Wasser in einem geschlossenen Röhrensystem innerhalb der Belichtungszelle wurde die Suspension auf 36° C konstant erwärmt. Belichtet wurden die beiden Breitseiten der ersteren mit zwei in ihrer Intensität variablen Projektionslampen, welchen zur Vermeidung störender Wärmeentwicklung kühlbare Wasserfilter vorgeschaltet worden waren. Vor der Zugabe des radioaktiven Bicarbonats wurde die Zellsuspension unter Rühren 20—30 min mit

je 60000 Lux beidseitig vorbelichtet, darauf 10 oder 20 μC $NaH^{14}CO_3$ aus einer Injektionsspritze zugegeben. Die nach bestimmten Zeitabständen entnommenen Proben wurden entweder sofort in kochenden Alkohol einfließen lassen (Endkonzentration 80%), oder sie wurden zunächst in Zentrifugengläser, welche in einen Eisblock eingefroren waren und etwas Eis enthielten, aufgefangen, und die Zellen mit einer Winkelkopfzentrifuge im Kühlraum schnell abgetrennt, diese darauf sofort mit kochendem Alkohol (80%) abgetötet. Nach kurzem Aufkochen erfolgte die Aufarbeitung der Zellen, wobei die markierten Verbindungen in einer Alkohol-Wasser-, in einer Petroläther- und in einer unlöslichen Fraktion aufgetrennt und angereichert wurden (vgl. BASHAM und CALVIN 1957); von jeder wurden Proben auf Aluminiumplättchen aufgebracht, getrocknet und ihre Radioaktivität mittels (fensterlosem) Methandurchfluß-Zählrohr bestimmt. Bei einigen Experimenten wurde darauf die Alkohol-Wasser-Fraktion stark eingeengt (etwa 0,5 ml) und Proben davon auf Whatman Nr. 1-Papier aufgetragen; die Entwicklung der Chromatogramme erfolgte zweidimensional mit wassergesättigtem Phenol und Butylalkohol-Propionsäure-Wasser-Gemisch (BENSON u. Mitarb. 1950). Die Lage der radioaktiven Verbindungen auf dem Papier wurde durch Radioautographie ermittelt, ihre Aktivität direkt auf dem Papier mit einem Fenster-Zählrohr (1,9 mg/cm²) gemessen. Die Identifizierung der markierten Verbindungen erfolgte durch Rechromatographie mit reinen Substanzen.

Ergebnisse

1. Symptome des Manganmangels bei *Anacystis*. Das erste Auftreten von Mangan-Mangelsymptomen konnte bereits 48 Std nach Ansatz der Flüssigkeitskulturen beobachtet werden. Die Kulturen zeigten eine typisch schmutziggrüne Färbung, im Gegensatz zur dunkelgrünen der Normalzellen. Im mikroskopischen Bild waren das geringe Auftreten von Teilungsstadien und die Bildung von fadenförmigen, unseptierten Riesenzellen charakteristisch (Abb. 1); letztere vergrößerten sich noch im Verlauf der Kultur, wobei sie ein zerlapptes und schraubiges Aussehen erhielten. Zellteilungen konnten im vorgeschrittenen Mangelstadium nicht mehr beobachtet werden.

Eine gewisse Steuerung der Mangelausprägung konnte erreicht werden, indem eine größere Zellmenge eingeimpft und die Beleuchtungsstärke während der ersten Tage erniedrigt wurde. Trotzdem bleibt dieses Verfahren mit dem Nachteil behaftet, daß infolge der stark herabgesetzten Teilungsrate bei den Mangelzellen die Kulturdichte gegenüber den Normalkulturen zurückbleibt und damit der Lichtgenuß pro Einzelzelle in den ersteren höher ist. Eine mögliche durch Manganmangel bedingte erhöhte Lichtempfindlichkeit der Zellen könnte somit wirksam werden. Für alle Photosynthesemessungen wurden daher Suspensionen gleicher Dichte (Zellvolumen) von Normal- und Mangelzellen hergestellt und einige Zeit vorkultiviert.

In den ersten Versuchen wurde das Verhalten von Pigmenten, RNS und Zellvolumina von Normal- und Mangelzellen in Kulturen gleicher Ausgangsdichte über 15 Tage verfolgt (Tabelle 1). Es wird deutlich, wie schwerwiegend sich das Fehlen von Mangan auf diese Zellkomponenten auswirkte: Während die Chlorophyllvermehrung bereits am 5. Tage aufhört, nehmen die Carotinoide bis zum 10., Phycocyan und

Tabelle 1. *Wirkung von Mangan-Mangel auf Zellstruktur, Wachstum und Syntheseleistung für Pigmente und RNS*

	+ Mn			− Mn		
	Kulturtag					
	5.	10.	15.	5.	10.	15.
Chlorophyll	6,7[1]	26,6	24	0,26	0,27	0,26
Carotinoide	4,28	14,3	16	0,39	0,47	0,44
Phycocyan	114	262	516	9,50	15,50	24,30
RNS	2,3	5,5	5,0	0,18	0,23	0,28
Zellvolumen (mm^3)	—	—	6,0	—	—	0,21

[1] Werte berechnet als μg/ml Kulturvolumen.

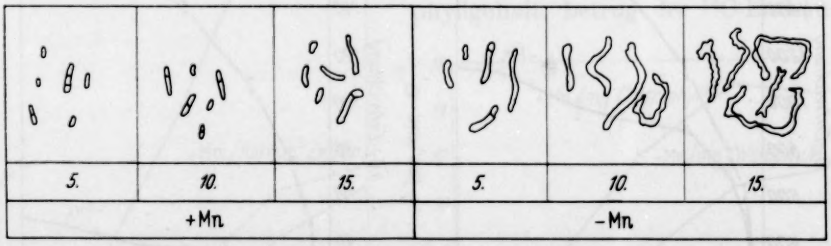


Abb. 1. Veränderungen der Zellstruktur (relative Größe) bei Normal- und Mangelzellen in Abhängigkeit von der Kulturdauer. Zellen der gleichen Kulturen wurden für die in Tabelle 1 aufgeführten Untersuchungen verwendet

RNS über den gesamten Versuchszeitraum zu. Bei den Normalzellen erlischt die Nettosynthese von Chlorophyll und RNS etwa am 10. Tag der Kultur. Bei Bezugnahme auf das Zellvolumen am 15. Tage ergibt sich folgendes Bild (Tabelle 2): Der Chlorophyllgehalt der Mangelzellen beträgt nur etwa ein Drittel der Normalzellen; bei den übrigen Komponenten war das Verhältnis für beide gleich oder sogar für die Mangelzellen etwas günstiger. Bei Manganmangel, scheint also abgesehen vom Chlorophyll, die Garnitur der gemessenen Komponenten, bezogen auf das Zellvolumen „normal" zu sein; bei Messung derselben in 1 ml Kultursuspension hingegen wird die Diskrepanz sichtbar, welche sich auf Grund der stark herabgesetzten und schließlich völlig fehlenden Zellvermehrung ausprägt.

Tabelle 2. *Pigment- und RNS-Gehalt von Normal- und Mangelzellen am 15. Kulturtage, bezogen auf gleiches Zellvolumen (1,0 mm^3)*

	Chlorophyll	Carotinoide	Phycocyan	RNS
+ Mn	4,0[1]	2,62	86,0	0,83
− Mn	1,23	2,10	116,0	1,33

[1] 10^{-6} g.

2. Photosynthese bei Manganmangel. Bei Messung der photosynthetischen Sauerstoffproduktion von Normal- und Mangelzellen (10. Tag)

in verschiedenen Lichtintensitäten ergab sich das in Abb. 2 dargestellte Bild: Sie ist bei niedrigen Beleuchtungsstärken nur wenig, bei höheren dagegen auf 60% des Normalwertes herabgesetzt, wenn der Chlorophyllgehalt der Zellen als Bezugsgröße verwendet wird. Bei Bezugnahme auf das Zellvolumen hingegen ist die Leistung der Mangelzellen erheblich niedriger; sie beträgt bei höheren Beleuchtungsstärken nur 28% des Normalwertes (Abb. 3). Damit ergibt sich eine Übereinstim-

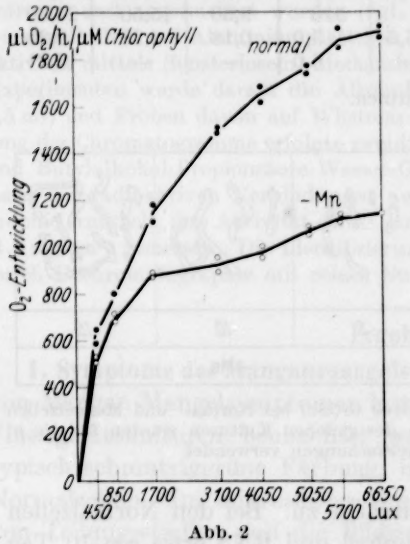


Abb. 2

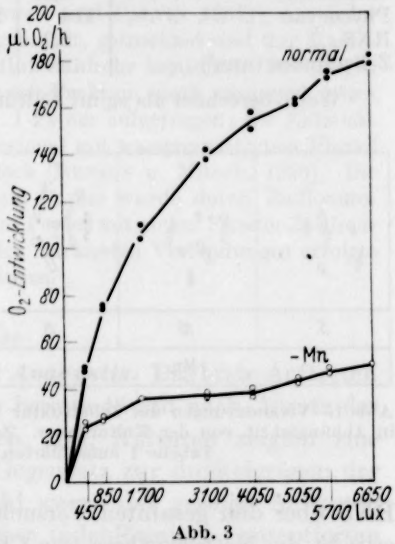


Abb. 3

Abb. 2. Photosynthetische Sauerstoffproduktion von Normal- und Mangelzellen (10. Tag) in Abhängigkeit von der Lichtintensität (Atmung berücksichtigt). Bezugsgröße: Chlorophyllgehalt. 20 mm³ Zellen je Gefäß

Abb. 3. Wie Abb. 1, jedoch Zellvolumen als Bezugsgröße

mung in der Photosyntheseleistung gleich alter Mangan-Mangelzellen von *Ankistrodesmus braunii* (KESSLER 1957).

Bezogen auf das Zellvolumen, war der respiratorische Sauerstoffverbrauch von Mangelzellen deutlich gegenüber dem von Normalzellen herabgesetzt (Tabelle 3); dies Verhalten entspricht den von EYSTER u. Mitarb. (1956) an *Chlorella* und von KESSLER (1957) an *Ankistrodesmus braunii* erhaltenen Befunden.

Tabelle 3. *Wirkung von Mangan-Mangel (10 Tage) auf den respiratorischen O_2-Verbrauch* KOH-Methode; Versuchsdauer 1 Std; je 20 mm³ Zellen im Gefäß.

Normal	31,8	28,8 mm³ O_2
— Mn	22,1	20,8 mm³ O_2

3. Photoreduktion. Trotz langfristiger Adaptation im Dunkeln mit Wasserstoff konnte das Phänomen der Photoreduktion weder bei Normal- noch bei Mangelzellen beobachtet werden; offenbar fehlen *Anacystis* im Gegensatz zu *Synechococcus elongatus*, einer Blaualge, bei welcher FRENKEL u. Mitarb. (1950) Photoreduktion gefunden haben, die dafür notwendigen Voraussetzungen, vor allem das Enzym Hydrogenase.

4. Photosynthetische $^{14}CO_2$-Fixierung. Bei diesen Experimenten wurden gleichdichten Suspensionen von Normal- und Mangelzellen, welche sich im stationären Zustand der Photosynthese befanden, radioaktives Bicarbonat im Licht angeboten und der Einbau des C^{14} in die Verbindungen der Zellfraktionen in Abhängigkeit von der Inkubationsdauer verfolgt. Für die drei Fraktionen, in welche die löslichen und unlöslichen Zellkomponenten ihrer chemischen Natur gemäß bei der Aufarbeitung aufgetrennt und angereichert wurden, ergaben sich folgende Verhältnisse: *Petroläther-Fraktion:* Bezogen auf den Chlorophyllgehalt, betrug der ^{14}C-Einbau

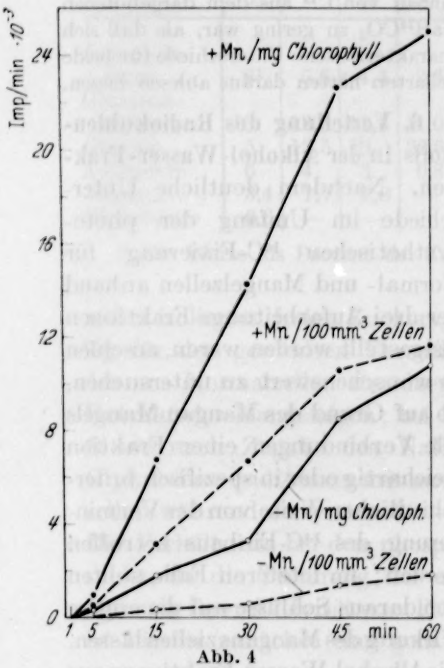


Abb. 4

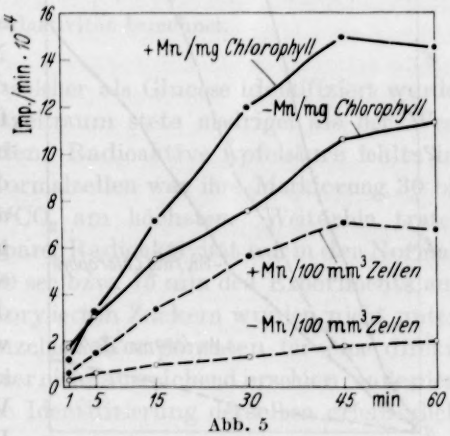


Abb. 5

Abb. 4. ^{14}C-Einbau in die Verbindungen der Petroläther-Fraktion (vgl. „Methodik") von Normal- und Mangelzellen (10. Tag) bei Photosynthese mit $NaH^{14}CO_3$ (20 μC/120 ml Zellsuspension) in Abhängigkeit von der Inkubationszeit (1—60 min). 12 mm³ Zellen je Probe. Bezugsgrößen: Chlorophyllgehalt und Zellvolumen

Abb. 5. ^{14}C-Einbau in die Verbindungen der Alkohol-Wasser-Fraktion von Normal- und Mangelzellen (10. Tag) bei Photosynthese in Gegenwart von $NaH^{14}CO_3$. Gleiches Versuchsmaterial und gleiche Versuchsbedingungen wie bei Abb. 4 beschrieben

in die Verbindungen dieser Gruppe bei den Mangelzellen nur 30—40% des Wertes, welcher für die Normalzellen ermittelt wurde; bezogen auf das Zellvolumen, waren es sogar nur 10—15% des Normalwertes (Abb. 4).

Alkohol-Wasser. Die Fixierung von ^{14}C in den Verbindungen dieser Fraktion (phosphorylierte Zucker, freie Zucker, organische Säuren, Aminosäuren) war zwar bei den Mangelzellen gegenüber den Normalzellen herabgesetzt, betrug aber (pro Milligramm Chlorophyll) 80—90% des Normalwertes; auf gleiches Zellvolumen bezogen, war jedoch mit nur 25—30% der Unterschied in der Leistung wesentlich größer (Abb. 5).

Unlösliche Fraktion. Mit steigender Inkubationsdauer verminderte sich die Rate des ^{14}C-Einbaus in Proteine, Nucleinsäuren und Reserveprodukte der Mangelzellen stetig, während sie bei den Normalzellen im Versuchszeitraum zunahm; besonders drastisch tritt dies bei Bezugnahme auf das Zellvolumen in Erscheinung (Abb. 6).

5. Dunkelfixierung von $^{14}CO_2$. Die durchgeführten Versuche zeigten, daß unter optimalen Bedingungen im Dunkeln der Einbau von C^{14} aus dem dargebotenen $NaH^{14}CO_3$ zu gering war, als daß sich charakteristische Unterschiede für beide Zellarten hätten daraus ablesen lassen.

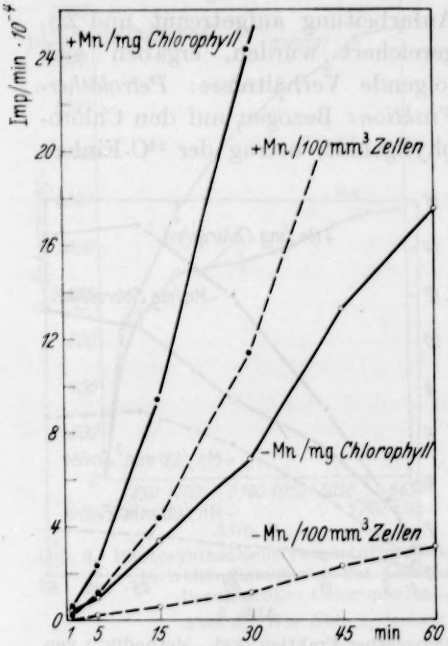


Abb. 6. ^{14}C-Einbau in die Verbindungen der unlöslichen Fraktion von Normal- und Mangelzellen (10. Tag) bei Photosynthese mit $NaH^{14}CO_3$ in Abhängigkeit von der Inkubationszeit. Gleiches Versuchsmaterial und gleiche Versuchsbedingungen wie bei Abb. 4 beschrieben

6. Verteilung des Radiokohlenstoffs in der Alkohol-Wasser-Fraktion. Nachdem deutliche Unterschiede im Umfang der photosynthetischen ^{14}C-Fixierung für Normal- und Mangelzellen anhand der drei Aufarbeitungs-Fraktionen festgestellt worden waren, erschien es wünschenswert zu untersuchen, ob auf Grund des Mangan-Mangels alle Verbindungen einer Fraktion gleichartig oder in spezifisch unterschiedlicher Weise von der Verminderung des ^{14}C-Einbaus betroffen werden; im letzteren Falle sollten sich daraus Schlüsse auf die engere Wirkung des Mangans ziehen lassen. Die Alkohol-Wasser-Fraktionen aus Normal- und Mangelzellen einiger Einbauexperimente wurden daher papierchromatographisch aufgetrennt, die Lage der radioaktiven Flecke auf dem Papier im Radioautogramm festgelegt und die Aktivität derselben gemessen. Tabelle 4 zeigt die typischen Ergebnisse eines Experiments; es wurden nur die Verbindungen mit höchster Aktivtät aufgeführt. Danach war der ^{14}C-Einbau in die Asparaginsäure bei den Mangan-Mangelzellen gegenüber den Normalzellen deutlich erhöht; wie in diesen lag das Maximum bei 1 min Inkubationszeit mit $NaH^{14}CO_3$, um dann gegen Ende des Experiments (60 min) auf etwa 25% abzusinken. Glutaminsäure zeigte die höchste radioaktive Markierung in den Normalzellen nach 30—60 sec; um eine entsprechend hohe Markierung dieser Aminosäure bei Mangelzellen zu erzielen, mußte diesen radioaktives Bicarbonat für 60 min angeboten werden. Die Aktivität des aus Mangel-

Tabelle 4. *Verteilung des Radiokohlenstoffs in den Verbindungen der Alkohol-Wasser-Fraktion von Normal- und Mangelzellen (10. Tag) nach kurzfristiger Photosynthese in Gegenwart von* $NaH^{14}CO_3$ (20 μC/120 ml Zellsuspension; 12 mm³ Zellen je Probe)

	+ Mn						− Mn					
	Inkubationszeit (Minuten)											
	1	5	15	30	45	60	1	5	15	30	45	60
Asparaginsäure . .	8[1]	5,6	4,4	3,6	2,4	2,3	38	33	21,5	12,7	11,5	9,8
Glutaminsäure . .	13	13,6	11,5	11,0	9,5	7,8	6,5	3,3	11	9,4	10,5	12,1
Glucose . .	5	13,5	19	22,6	11	14,5	—	4,4	5,6	10,5	9,4	15
Äpfelsäure .	6	4	3	0,8	—	—	—	—	—	—	—	—
Alanin . . .	3,4	1,7	1,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Glycolsäure	6,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[1] Alle Werte als Prozent der Totalaktivität berechnet.

zellen isolierten freien Zuckers, welcher als Glucose identifiziert wurde, lag für den gewählten Versuchszeitraum stets niedriger als der Wert des aus Normalzellen stammenden. Radioaktive Äpfelsäure fehlte im Extrakt der Mangelalgen; bei Normalzellen war ihre Markierung 30 bis 60 sec nach Zugabe des $NaH^{14}CO_3$ am höchsten. Weiterhin traten Glykolsäure und Alanin mit meßbarer Radioaktivität nur in den Normalzellen während der ersten 30—60 sec bzw. 15 min des Experiments auf. Die Verhältnisse bei den phosphorylierten Zuckern wurden nicht untersucht, da die Trennung der einzelnen Komponenten für eine direkte Messung ihrer Aktivität vom Papier nicht ausreichend erschien; außerdem ist hierfür zunächst eine genaue Identifizierung derselben erforderlich.

Diskussion

Vergleicht man die cytologischen Veränderungen, welche auf Grund von Mangan-Mangel bisher bei Grünalgen beschrieben worden sind, mit denen von *Anacystis nidulans*, so ergeben sich trotz Gemeinsamkeiten deutliche Unterschiede. Bei *Ankistrodesmus braunii* wurde als Folge unzureichender Mangan-Versorgung eine herabgesetzte Teilungsgeschwindigkeit bei weitgehend ungestörter Chlorophyllsynthese (Bezugsgröße/Trockengewicht) unter autotrophen Kulturbedingungen festgestellt (Pirson u. Mitarb. 1952); erst bei starkem Mangan-Mangel zeigten die Zellen morphologische Veränderungen in Form von Abkugelung und Gruppenbildung. Bei *Chlorella pyrenoidosa* verursachte Mangan-Mangel eine stark herabgesetzte Zellteilung bei ebenfalls ungestörter Chlorophyllsynthese; infolge Teilungshemmung traten Zellvergrößerungen auf (Pirson 1937; Alberts-Dietert 1941; Pirson u. Mitarb. 1952). Weitere Untersuchungen am gleichen Objekt von Bergmann (1955) und Pirson und Bergmann (1955) ergaben, daß das autotrophe

Wachstum von Mangan-Mangelkulturen um 50% gegenüber den Normalkulturen herabgesetzt war.

Auch bei dem Purpurbacterium *Rhodopseudomonas spheroides* war die Störung des Photosynthese-Apparates zunächst völlig unabhängig vom Pigmentsystem (WIESSNER 1960).

Aus den Untersuchungen an *Anacystis* geht hervor, daß die Mangan-Mangelsymptome bei autotropher Kultur hinsichtlich Zellteilung und Zellstruktur mit denen der Grünalgen zwar vergleichbar, in ihrem Auftreten und ihren Auswirkungen jedoch viel tiefgreifender sind. So erfolgte die Sistierung der Zellteilung bereits am 5. Tage nach Kulturbeginn, so daß die Zunahme der Zellmasse danach lediglich auf einer abnormen Vergrößerung der Einzelzellen beruhte. Das Vorliegen geringerer Manganspuren im Kulturmedium als Ursache dieses Verhaltens konnte ausgeschlossen werden, da die gleichen Chemikalien, zur Herstellung von Mangan-Mangelmedium verwendet, die typischen Symptome bei *Ankistrodesmus braunii* bewirkten.

Abweichend von den Befunden an Grünalgen ist das Verhalten von Chlorophyll in den Mangan-Mangelzellen von *Anacystis;* bereits am 5. Tage war keine Nettosynthese (pro Milliliter Kultur) mehr festzustellen, während Carotinoide, Phycocyan und RNS noch zunahmen. Vergleichsweise betrug die Chlorophyllzunahme der Mangelzellen von *Ankistrodesmus* am 15. Kulturtage noch 50% der Normalzellen, wobei für die letzteren noch eine erhöhte Zunahme infolge Schwachlicht-Adaptation in Rechnung gesetzt werden muß. Auf Zellvolumen bezogen, war der Chlorophyllgehalt von *Anacystis*-Mangelzellen nach 15 Tagen auf ein Viertel des Normalwertes abgesunken (Tabelle 2); obwohl ein Vergleich mit den Grünalgen infolge einer anderen Bezugsgröße erschwert ist, wird doch ein deutlicher Unterschied zu diesen sichtbar.

Welcher Art diese Hemmung der Chlorophyllsynthese bei Mangan-Mangel ist, kann noch nicht sicher entschieden werden; ein ähnlicher Befund ist erstmalig von BISHOP (1928) beschrieben worden. EYSTER u. Mitarb. (1958) fanden, daß starke Belichtung autotropher Mangan-Mangelkulturen von *Chlorella pyrenoidosa* zur Ausbleichung und deutlicher Chlorose führt; die Autoren schließen auf Grund dieses Befundes auf eine Schutzfunktion des Mangans gegen eine Photobleichung von Chlorophyll und weisen dem Element daher eine Funktion im sauerstoffbeseitigenden System zu, wo es die Bildung von Peroxyden unterbinden soll. Ähnliche Verhältnisse könnten auch bei *Anacystis* vorliegen, zumal die Mangelzellen infolge geringer Kulturdichte höheren Beleuchtungsstärken ausgesetzt sind als die Normalzellen in schnell dichter werdenden Kulturen. Grundsätzlich konnte eine Anfälligkeit von *Anacystis* gegen höhere Beleuchtungsstärken (5000 Lux) im kompletten Kulturmedium festgestellt werden, welche sich in einer Gelbfärbung der Zellen ausprägte; dieses Verhalten ist auch von MYERS und KRATZ (1955) beobachtet worden.

Die photosynthetische Sauerstoffproduktion im Starklicht war bei *Ankistrodesmus braunii* je nach Stärke des Mangan-Mangels auf 30—50% des Normalwertes, bezogen auf das Trockengewicht der Zellen, erniedrigt; für Chlorophyllgehalt als Bezugsgröße ergab sich eine Verminderung auf etwa 60%. Dieser Hemmeffekt auf Grund von Mangan-Mangel war weitgehend unabhängig von der Beleuchtungsstärke und stand in keiner Weise in Beziehung zum Chlorophyllgehalt und zu den Vorgängen des Wachstums (Pirson u. Mitarb. 1952; Kessler 1957). Er konnte durch optimale Mangangaben völlig aufgehoben werden, indem die Photosynthese innerhalb von Stunden auf den Normalwert anstieg bei unverändertem Chlorophyllgehalt. Entsprechende Versuche bei *Anacystis* stehen noch aus. Bei dieser Alge konnte die Hemmung der O_2-Entwicklung erst bei höheren Beleuchtungsstärken (über 1000 Lux) eindeutig festgestellt werden. Bezogen auf Zellvolumen, verschlechterte sich die Sauerstoffproduktion gegenüber Normalzellen auf etwa 30%, was auf Grund der enormen Zellvergrößerung bei gleichzeitiger Sistierung der Chlorophyllvermehrung verständlich ist.

Die Geschwindigkeit der photosynthetischen ^{14}C-Fixierung war in den drei untersuchten Fraktionen jeweils eindeutig niedriger für die Mangelzellen, und zwar unabhängig vom gewählten Bezugssystem. Hieraus könnte zunächst auf einen mangan-abhängigen Vorgang im Photosynthesegeschehen geschlossen werden, dessen allmähliche Blockierung alle mittelbar oder unmittelbar angeschlossenen Reaktionen in Mitleidenschaft zieht. Die Befunde, nach denen dem Mangan eine Beteiligung im photochemischen Primärprozeß (Arnon 1954; Bergmann 1955), im sauerstoff-produzierenden System (Kessler 1957; Kessler u. Mitarb. 1960) oder eine Schutzfunktion gegen Chlorophyllausbleichung (Eyster u. Mitarb. 1958) zugeordnet werden kann, kommen dieser Deutung entgegen. Andere Möglichkeiten einer Manganwirkung auf der reduktiven Seite des Photosyntheseablaufs sind ebenfalls diskutiert worden; so fanden Allen u. Mitarb. (1955) eine Förderung der photosynthetischen CO_2-Bindung bei isolierten Chloroplasten in Gegenwart von Mangan. Tanner u. Mitarb. (1960) untersuchten bei Mangelzellen von *Chlorella pyrenoidosa* das Auftreten markierter Produkte nach kurzfristiger Photosynthese mit $^{14}CO_2$; sie fanden im Vergleich zu Normalzellen keine Anhäufung von Glykolsäure und eine stark verminderte Markierung in Äpfel- und Bernsteinsäure, Serin, Alanin und Saccharose. Die Verfasser schließen daraus, daß Mn^{++}, bzw. Mn^{+++}-Ionen bei der Bildung der Glykolsäure aus einem Radikal des CO_2 und dessen Umwandlung zu Glyoxylsäure beteiligt sind; die Hemmung dieser Reaktion soll die übrigen Zwischenprodukte in Mitleidenschaft ziehen.

Die erhaltene Verteilung des Radiokohlenstoffs in den Verbindungen der Alkohol-Wasser-Fraktion aus *Anacystis* bestätigt diese Befunde insofern, als in den Mangelzellen markierte Glykolsäure, Äpfelsäure und

Alanin bei kurz- und langfristiger Inkubation mit $^{14}CO_2$ im Starklicht nicht nachgewiesen werden konnten. Einen deutlicheren Effekt stellt jedoch für *Anacystis* die von den Normalzellen stark abweichende Markierung von Asparagin- und Glutaminsäure dar, welche von EYSTER u. Mitarb. bei *Chlorella* nicht beobachtet wurde. Obwohl die Reaktionen, welche zur Bildung der Aminosäuren und ihrer Vorstufen führen, bei *Anacystis* noch nicht eingehend untersucht sind, sprechen die Befunde für eine Beteiligung von Mangan als enzymatische Komponente bei diesen. Untersuchungen an *Rhodopseudomonas spheroides* haben gezeigt, daß eine solche Wirkung von Mangan grundsätzlich möglich ist (WIESSNER 1960). Die Abweichungen in der löslichen Fraktion der Mangelzellen von *Anacystis* können somit nicht mehr ausschließlich als Sekundärwirkungen eines übergeordneten mangan-abhängigen Prozesses gedeutet werden.

Das gleiche gilt vermutlich auch für die unlösliche Fraktion; eine Ursache für den stark herabgesetzten Einbau in diese bei Mangelzellen dürfte die gestörte Synthese der drei Aminosäuren Asparaginsäure, Glutaminsäure und Alanin sein, welche eine geordnete Synthese von Proteinen erschweren sollte. Inwieweit diese und weitere noch nicht sicher festgestellte Wirkungen des Mangans beim Aufbau der Nucleinsäuren für die beobachtete Sistierung der Zellteilung verantwortlich sind, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

Abschließend erhebt sich die Frage, ob nicht die erhöhte Anfälligkeit von *Anacystis* gegenüber Manganmangel als Ausdruck des photoautotrophen Charakters dieser Blaualge zu werten ist. Für *Chlorella* konnten EYSTER u. Mitarb. (1958) zeigen, daß der Manganbedarf der Zellen bei autotropher Kultur etwa 1000mal höher lag als bei heterotropher. Gut verständlich ist in diesem Zusammenhang der geringe Manganbedarf von *Rhodopseudomonas spheroides*, wo Sauerstoffentwicklung und Photoautotrophie fehlen (WIESSNER 1960); ähnlich verhalten sich Algen, wenn sie auf Grund von Wasserstoffadaptation auf die anaerobe Photoreduktion umgestellt werden (KESSLER 1957). Erst nach eingehenderen, vergleichenden Untersuchungen wird eine Entscheidung darüber möglich sein, ob strikte Photoautotrophie stets mit erhöhtem Manganbedarf gekoppelt ist.

Summary

1. The strict photoautotrophic blue-green alga, *Anacystis nidulans*, has a high requirement for manganese; its absence from the culture medium causes significant changes in the morphology and the metabolism of the cells.

2. These effects though comparable with those described for green algae are more severe and irreversible. After 5 days of culture in manganese deficient medium cell division is increasingly inhibited while cell growth continues giving rise to filamentous giant cells.

3. Net synthesis of chlorophyll ceases after 5 days, that of carotenoids after 10 days; phycocyanin and RNA are synthesized at a small rate up to 15 days.

4. Photosynthesis of deficient cells (10 days old) as measured by their oxygen production at high light intensities is reduced to 60% of the rate of normal cells when based upon their chlorophyll content; based upon equal cell volume the rate of the deficient cells was only 28% of the normal ones.

5. After short-time photosynthesis with radioactive bicarbonate the ^{14}C-fixation in the petrolether, the alcohol-water and the insoluble fraction from deficient cells was significantly lower as compared with the corresponding fractions from normal cells.

6. The alcohol-water fraction from manganese deficient cells differs in the distribution pattern of the incorporated ^{14}C from that of normal cells insofar as aspartic acid has a higher, glutamic acid a lower content of ^{14}C. Moreover, no labelling of glycolic acid, malic acid and alanine occurs in deficient cells during these short-time incorporation experiments.

7. The results indicate that a correlation exists between high manganese requirement and strict photoautotrophy; in *Anacystis* the relation of manganese to photosynthesis is obviously not restricted to the mechanism of oxygen liberation but seems to exist on the reductive side of photosynthesis, too.

Literatur

Alberts-Dietert, F.: Die Wirkung von Eisen und Mangan auf die Stickstoff-Assimilation von *Chlorella*. Planta (Berl.) **32**, 88—117 (1941).

Allen, M. B., D. I. Arnon, J. B. Capindale, F. R. Whatley and C. J. Durham: Photosynthesis by isolated chloroplasts. III. Evidence for complete photosynthesis. J. Amer. chem. Soc. **77**, 4149—4155 (1955).

Arnon, D. I.:Some recent advances in the study of essential micronutrients for green plants. VIII. Congr. Int. Bot., Paris, Sekt. 11, S. 73—80 (1954).

Basham, J. A., and M. Calvin: The path of carbon in photosynthesis. Englewood Cliffs, N. J.: Prentice-Hall, Inc. 1957.

Benson, A. A., J. A. Basham, M. Calvin, T. C. Goodale, V. A. Haas and W. Stepka: The path of carbon in photosynthesis. V. Paper chromatography and radioautography of the products. J. Amer. chem. Soc. **72**, 1710—1718 (1950).

Bergmann, L.: Stoffwechsel und Mineralsalzernährung einzelliger Grünalgen. II. Vergleichende Untersuchungen über den Einfluß mineralischer Faktoren bei heterotropher und mixotropher Ernährung. Flora (Jena) **142**, 493—539 (1955).

Bishop, N. I., and H. Gaffron: The inhibition of photosynthesis by sodium fluoride. I. The sodium fluoride-induced carbon dioxide burst from *Chlorella*. Biochim. biophys. Acta **28**, 35—44 (1958).

Bishop, W. B. S.: The distribution of manganese in plants, and its importance in plant metabolism. Aust. J. exp. Biol. med. Sci. **5**, 125—141 (1928).

EYSTER, C., T. E. BROWN and H. A. TANNER: Manganese requirement with respect to respiration and the Hill reaction in *Chlorella pyrenoidosa*. Arch. Biochem. **64**, 240—241 (1956).

— — — and S. L. HOOD: Manganese requirement with respect to growth, Hill reaction and photosynthesis. Plant Physiol. **33**, 235—241 (1958).

FRENKEL, A., E. BATTLEY and H. GAFFRON: Photosynthesis and photoreduction by the blue-green alga, *Synechococcus elongatus* NÄG. Biol. Bull. (Woods Hole) **99**, 157—162 (1950).

GAFFRON, H., and J. ROSENBERG: Über Rückreaktionen bei der Photosynthese. Naturwissenschaften **42**, 354—364 (1955).

KESSLER, E.: On the role of manganese in the oxygen-evolving system of photosynthesis. Arch. Biochem. **59**, 527—529 (1955).

— Stoffwechselphysiologische Untersuchungen an Hydrogenase enthaltenden Grünalgen. I. Über die Rolle des Mangans bei Photoreduktion und Photosynthese. Planta (Berl.) **49**, 435—454 (1957).

— R. MORAW, B. RUMBERG and H. T. WITT: Manganese content and changes in light absorption during photosynthesis in green algae. Biochim. biophys. Acta **43**, 134—135 (1960).

KRATZ, W. A., and J. MYERS: Nutrition and growth of several blue-green algae. Amer. J. Bot. **42**, 282—287 (1955).

MACKINNEY, G.: Absorption of light by chlorophyll solutions. J. biol. Chem. **140**, 315—322 (1941).

MYERS, J., and W. A. KRATZ: Relations between pigment content and photosynthetic characteristics in a blue-green alga. J. gen. Physiol. **39**, 11—22 (1955).

OGUR, M., and G. ROSEN: The nucleic acids of plant tissues. I. The extraction and estimation of desoxypentose nucleic acid and pentose nucleic acid. Arch. Biochem. **25**, 262—276 (1950).

PIRSON, A.: Ernährungs- und stoffwechselphysiologische Untersuchungen an *Fontinalis* und *Chlorella*. Z. Bot. **31**, 193—267 (1937).

— Mineralstoffe und Photosynthese. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. IV, S. 355—381. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.

—, and L. BERGMANN: Manganese requirement and carbon source in *Chlorella*. Nature (Lond.) **176**, 209—210 (1955).

— C. TICHY u. G. WILHELMI: Stoffwechsel und Mineralsalzernährung einzelliger Grünalgen. I. Vergleichende Untersuchungen an Mangelkulturen von Ankistrodesmus. Planta (Berl.) **40**, 199—253 (1952).

RICHTER, G.: Comparison of enzymes of sugar metabolism in two photosynthetic algae: *Anacystis nidulans* and *Chlorella pyrenoidosa*. Naturwissenschaften **46**, 604 (1959).

— The lack of diphosphofructose aldolase in two photosynthetic organisms: *Anacystis nidulans* and *Rhodopseudomonas spheroides*. Biochim. biophys. Acta **48**, 606—608 (1961).

SVEDBERG, T., and T. KATSURAI: The molecular weights of phycocyan and phycoerythrin from Phorphyra tenera and of phycocyan from *Aphanizomenon Flos Aquae*. J. Amer. chem. Soc. **51**, 3573—3583 (1929).

TANNER, H. A., T. E. BROWN, C. EYSTER and R. W. TREHARNE: A manganese dependent photosynthetic process. Biochem. Biophys. Res. Commun. **3**, 205 to 210 (1960).

WIESSNER, W.: Wachstum und Stoffwechsel von *Rhodopseudomonas spheroides* in Abhängigkeit von der Versorgung mit Mangan und Eisen. Flora (Jena) **149**, 1—42 (1960).

Dr. G. RICHTER,
Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5

Planta 57, 215—234 (1961)

Aus dem Staatsinstitut für Allgemeine Botanik in Hamburg

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE WUCHS- UND HEMMSTOFFE DER WURZELSPITZE UND DER PLUMULA VON *VICIA FABA**

Von

MARGRET BAYER

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 8. Juni 1961)

Einleitung

Über das Vorkommen und die Eigenschaften verschiedener Pflanzenwuchsstoffe wird bereits seit längerem in der Literatur berichtet, doch konnte erst durch die papierchromatographische Analyse ein genauerer Einblick in die Mannigfaltigkeit der Pflanzenwuchsstoffe gewonnen werden. Pflanzliche Hemmstoffe hingegen sind trotz ihrer großen Bedeutung für das Pflanzenwachstum weniger gut bekannt, obgleich schon vor 2 Jahrzehnten durch Arbeiten von LINSER (1939) und VOSS (1939) die Existenz von Hemmstoffen nachgewiesen worden war. Der direkte Hemmstoffnachweis gelang in einigen Fällen bei der Papierchromatographie von Wuchsstoffen (z. B. BENNET-CLARK und KEFFORD 1953; KEFFORD 1955; PILET 1958), wobei sie mehr oder minder als Nebenprodukte der Wuchsstoffuntersuchungen entdeckt wurden. Über die Wirkungsweise der Hemmstoffe und ihre Bedeutung jedoch herrscht noch große Unsicherheit. Deshalb wurde in der vorliegenden Arbeit besonderes Augenmerk auf die Beteiligung der Hemmstoffe am Wuchsstoff-Hemmstoff-Haushalt der Pflanze gelegt.

Die Untersuchungen wurden an Wurzel- und Sproßstückchen ausgeführt, da anzunehmen war, daß infolge der verschiedenen physiologischen Funktionen dieser Pflanzenorgane ein Unterschied in ihrem Wuchs- und Hemmstoffgehalt besteht. Versuchspflanze war *Vicia faba*. BOYSEN JENSEN (1933) konnte in seinen Untersuchungen zeigen, daß *Vicia faba*-Wurzeln für den Wuchsstoffnachweis besonders gut geeignet seien. Auch Arbeiten von CHOLODNY (1934) und PILET (1958) über den Wuchsstoffgehalt von Leguminosenwurzeln und papierchromatographische Untersuchungen von KEFFORD (1955) über *Vicia faba*-Wurzeln ließen einen größeren Wuchsstoffgehalt vermuten.

A. Agar-Abfangversuche

I. Material und Methodik

Als Versuchsmaterial diente *Vicia faba* (Sorte „Hangdown Riesen", Ernte 1958 und 1959). Die Bohnen wurden 24 Std in Leitungswasser eingequollen, anschließend in feuchtes Sägemehl gepflanzt und im Dunkeln bei 23° C zur Keimung

* Teil einer Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Hamburg.

gebracht. In den Wurzelversuchen wurden nur völlig gesunde, gerade gewachsene und gleich lange Wurzeln im Alter von 4—5 Tagen, vom Zeitpunkt des Einquellens an gerechnet, benutzt. Sie besaßen dann eine durchschnittliche Länge von 4—6 cm. Nur die ersten 3—4 mm der Wurzelspitzen wurden untersucht. Die verwendeten Plumulae wurden aus ebenso alten Keimlingen herauspräpariert. Sie besaßen eine Länge von durchschnittlich 5 mm.

Die Wurzelspitzen und die Sproßstückchen wurden auf Agarblöckchen aufgesetzt, die nach der von SÖDING (1952) beschriebenen Methode hergestellt waren. Es erwies sich als zweckmäßig, vor dem Aufsetzen der Gewebestückchen den Agarwürfeln Glucose zuzusetzen (BOYSEN JENSEN 1933; VAN RAALTE 1937). Die gewählte Glucosekonzentration in den Agarwürfeln betrug 6%.

Das Abfangen des Wuchsstoffes erfolgte in einer feuchten Kammer (mit feuchtem Fließpapier ausgelegte Petrischale) im Dunkeln. Die Dauer des Abfangens schwankte in den einzelnen Versuchen zwischen 2 und 3 Std, in Ausnahmefällen betrug sie 5—16 Std.

Für die quantitative Wuchsstoffbestimmung diente der Hafer-Krümmungstest (als Tageslichttest nach SÖDING 1952). Als Testmaterial wurde für den weitaus größten Teil der Versuche die Sorte Carsten VII (Ernte 1958 und 1959) verwandt. Zur Prüfung der relativen Empfindlichkeit der Haferkoleoptilen an verschiedenen Tagen wurde meist eine Kontrolle mit synthetischer Indolylessigsäure(IES)-Lösung ausgeführt.

Als weiterer Nachweis aktiven Wuchsstoffes in Wurzelspitzen wurde die Testmethode von BOYSEN JENSEN (1933) und CHOLODNY (1934) angewandt. Dazu wurden 2 mm lange Wurzelspitzen einseitig auf dekapitierte Haferkoleoptilen angesetzt. Die Wurzelspitzen wurden direkt auf die Schnittflächen der Koleoptilen mit etwas flüssiger Gelatine angeklebt und die Krümmungen wie bei der Testmethode mit Agarwürfeln nach $2^1/_4$ Std abgelesen.

Um in den Pflanzenstückchen außer Wuchsstoff auch noch eventuell vorhandene Hemmstoffe nachweisen zu können, wurde den Agarwürfeln mit den abgefangenen natürlichen Wirkstoffen eine synthetische Indolylessigsäure-Lösung bekannter Konzentration zugesetzt; als Kontrolle diente die reine IES-Lösung. In diesen „Kompensationstesten" (STEWART u.a. 1939; v. GUTTENBERG und ZETSCHE 1956) bremst der Hemmstoff die Förderwirkung der IES-Lösung ab, was in einem kleineren negativen Krümmungswinkel zum Ausdruck kommt. Es sollten so Hemmstoffe erfaßt werden, die für sich allein keine positiven Krümmungen hervorbringen, deren Vorhandensein in Verbindung mit synthetischer IES im Krümmungstest jedoch sichtbar gemacht werden kann. Es wurden sowohl unteroptimale als auch überoptimale IES-Vorlagen angewandt. Die Höhe der verwendeten Konzentrationen schwankte je nach den durch die jahreszeitlich wechselnde Empfindlichkeit des Testes (SÖDING und FUNKE 1942) bedingten Erfordernissen. Die Wirksamkeit dieser Konzentrationen wurde an Hand zahlreicher Vergleichsteste mit anderen IES-Konzentrationen zu verschiedenen Jahreszeiten ständig geprüft und in Kurven aufgezeichnet, um sicherzugehen, daß es sich tatsächlich bei den angewandten Konzentrationen um unter- oder überoptimale IES-Vorlagen handelte. Um eine gleichmäßige Verteilung der zugegebenen IES-Lösungen zu gewährleisten, wurden die Agarblöckchen 1—2 Std dunkel aufbewahrt und dann im Avena-Test geprüft.

II. Versuchsergebnisse

1. Versuche ohne IES-Vorlagen. In neun Versuchen mit durchschnittlich je 20—40 Wurzelspitzen oder Plumulastückchen wurde bei Abfangzeiten zwischen 2 und 3 Std ein deutlicher Unterschied in der Ausbeute

an aktivem Wuchsstoff zwischen Wurzel und Sproß gefunden (Tabelle 1). Es zeigte sich, daß in allen Versuchen die Wuchsstoffabgabe der Plumulastückchen größer ist als die der Wurzelspitzen. Daß jedoch auch aus den Wurzelspitzen wenigstens etwas Wuchsstoff abzufangen war, ergibt ein Vergleich mit den reinen Glucoseagar-Kontrollen, die an Haferkoleoptilen keinerlei Wuchsstoffwirkungen hervorriefen.

Tabelle 1. *Abfangversuche (+ Glucosezusatz) ohne IES-Vorlage*
Durchschnittswerte von je 20—40 gemessenen Krümmungen.

Abfangdauer Std	Glucosekontrolle	Wurzelspitzen	Plumulae
$2^1/_2$	0°	2,0°	—
2	0°	1,1°	8,8°
$2^1/_2$	0°	+2,2°	10,5°
2	1,4°	0,4°	4,2°
2	0°	0,6°	6,0°
2	0°	0,5°	4,2°
2	0°	0,1°	11,2°
2	0°	+0,7°	7,7°
2	0°	0,9°	2,0°
Durchschnittswerte von 250 gemessenen Krümmungen		0,3°	6,1°

Die durch Wurzelspitzendiffusate hervorgerufenen Krümmungen der Testkoleoptilen schwankten zum Teil beträchtlich. Auch innerhalb einer Versuchsserie konnten negative und positive Krümmungswerte nebeneinander auftreten. Bisweilen zeigten die Wurzelspitzen einen Wuchsstoffgehalt, der im Hafertest negative Krümmungen bis zu 17° hervorrief, während andere deutliche Hemmwirkungen (bis zu maximal +20°) aufwiesen. Es ergab sich also ein sehr uneinheitliches Bild, das durch die unterschiedlichen Eigenschaften der einzelnen Wurzelspitzen hervorgerufen wurde, die jedenfalls Wuchs- *und* Hemmstoffe enthielten. Die durchschnittlichen Krümmungswerte der einzelnen Versuche wichen deshalb kaum von Null ab. Bei den Plumulaversuchen dagegen lagen deutliche negative Krümmungen vor, die auf die Abgabe von Wuchsstoff zurückzuführen sind. Die Krümmungen betrugen bis zu 30°. Auch bei den Plumulae war, wie bei den Wurzelspitzen, ein Unterschied hinsichtlich des abfangbaren Wirkstoffes festzustellen, doch lagen nur in einem Versuch vereinzelt positive Krümmungen bis zu 4° vor, die auf einen Hemmstoff hindeuten könnten.

Bei Versuchen mit einer Abfangdauer von mehr als 3 Std, in denen die Wurzelspitzen und Plumulastückchen 5—16 Std auf den Agarwürfeln belassen wurden, konnten bei den Wurzelspitzen nur positive Krümmungen beobachtet werden, während Plumulapräparate keine Krümmungen im Hafertest hervorriefen. Der abfangbare Wuchsstoff ist durch enzymatische Prozesse entweder zerstört oder in einen Hemmstoff umgewandelt worden. Im Gewebe befinden sich also Enzyme oder Enzymsysteme, die innerhalb weniger Stunden (5 und mehr) den aktiven Wuchsstoff völlig zum Verschwinden bringen können. Wurden die Wurzelspitzen und Plumulastückchen nach 2- oder 3stündigem Abfangen von den Agarwürfeln entfernt und die Würfel bis zum Test verdunkelt 12—20 Std lang stehengelassen, so zeigte sich nur noch eine schwache Wuchsstoffwirkung. Die den Wuchsstoff zerstörende oder umwandelnde Reaktion muß also teils von dem intakten Gewebe, teils von gleichfalls mit an den Agar abgegebenen Stoffen ausgehen. Da bei kürzeren

Abfangzeiten (weniger als $1^1/_2$ Std) so gut wie kein Wirkstoff abzufangen war, wurde bei den weiteren Versuchen nach Möglichkeit eine Abfangdauer von 2—3 Std eingehalten.

Weiter wurden in Anlehnung an BOYSEN JENSEN (1933) und CHOLODNY (1934) die Wurzelspitzen direkt an Haferkoleoptilen angeklebt. Dabei ergaben sich ausgeprägte Wuchsstoffkrümmungen bis zu 24°. Der Durchschnittswert von 40 gemessenen Krümmungen lag bei 16°. Wurzelspitzen enthalten also neben dem zu vermutenden Hemmstoff auch einen beträchtlichen Anteil an Wuchsstoff, dessen Nachweis mit der Agar-Abfangmethode jedoch nicht ohne weiteres gelingt.

2. Kompensationsteste. Die beschriebenen Agar-Abfangversuche lassen in Wurzelspitzen einen Hemmstoff vermuten, doch geht dessen Existenz aus den Versuchen noch nicht sicher hervor.

Eine Möglichkeit des Hemmstoffnachweises wird durch den von STEWART u. a. (1939) und von v. GUTTENBERG und ZETSCHE (1956) beschriebenen Kompensationstest mit synthetischer IES gegeben. Die Hemmstoffwirkung macht sich gegenüber der IES-Wirksamkeit in geringeren Wuchsstoffkrümmungen bemerkbar.

Abfangpräparate von Plumulastückchen wurden in der gleichen Weise wie die der Wurzelspitzen mit synthetischer IES-Lösung versetzt.

a) Versuche mit unteroptimaler IES-Vorlage. Schwache IES-Konzentrationen von $5:10^8$, $7:10^8$, $8:10^8$ und $1:10^7$ erwiesen sich zu allen Jahreszeiten für die Versuche mit unteroptimaler IES-Vorlage als am besten geeignet. Die IES-Vorlage wurde unter Berücksichtigung der jahreszeitlich schwankenden Empfindlichkeit des Testes so gewählt, daß sie allein eine Krümmung von etwa 10° auf dem ansteigenden Ast der Wirkungskurve des Testes ergeben sollte; naturgemäß konnte diese Menge nicht immer richtig getroffen werden.

Die Ergebnisse von elf Kompensationstesten mit unteroptimaler IES-Vorlage mit durchschnittlich je 20 Wurzelspitzen und je 20 Plumulastückchen je Versuch zeigt die folgende Aufstellung (Tabelle 2). Sowohl von Wurzelspitzen als auch von Plumulastückchen wurde ein Stoff abgegeben, der die Wirksamkeit der schwachen IES-Lösungen im Krümmungstest erhöhte. Die Förderung der Wirkung schwacher IES-Vorlagen spricht für das Vorhandensein von Wuchsstoff in beiden Pflanzenteilen. Die Ausbeute an abfangbarem Wuchsstoff war nicht sehr groß.

In weiteren drei Versuchen wurden die Agarblöckchen nach dem Abfangen und der IES-Zugabe etwa 16 Std dunkel stehengelassen und dann erst im Krümmungstest auf ihren Wuchsstoffgehalt geprüft. Dabei ergab es sich, wie schon in den Versuchen ohne IES-Vorlage, daß die Wuchsstoffwirkung bedeutend vermindert war. Meist waren die erhaltenen Krümmungen geringer als die der IES-Vorlage allein. Es wurde deshalb vermieden, die Agar-Wuchsstoffpräparate mit der IES-Vorlage länger als 1—2 Std bis zur Auswertung im Krümmungstest stehenzulassen, da die Ergebnisse durch Inaktivierung des Wuchsstoffes gestört wurden.

Versuche *ohne* IES-Vorlage ließen in Wurzelspitzen Hemmstoff (neben Wuchsstoff) vermuten. Die Kompensationsteste mit *unteroptimaler* IES-Vorlage weisen jedoch klar auf einen wirksamen Wuchsstoff in Wurzelspitzen hin. Jedenfalls besitzt die Wurzelspitze ein Gemisch aus Wuchs- und Hemmstoffen, das zusammengenommen allein (ohne IES-Zugabe) im Haferkrümmungstest fast unwirksam ist. Man kann diese Tatsache wohl auch mit auf den Umstand zurückführen, daß die für synthetische IES-Konzentrationen typische Wirkungskurve bei sehr schwachen IES-Konzentrationen (weniger als $5:10^8$) eine charakteristische Delle in ihrem Verlauf zeigt (SÖDING 1952). Handelt es sich nun bei dem abgefangenen Wuchsstoff der Wurzelspitzen um sehr niedrige Konzentrationen in Verbindung mit Hemmstoff, so fallen sie in den Bereich dieser Delle und können sich also im Krümmungstest nicht bemerkbar machen. Anders wird es erst in den Bereichen der Wirkungskurve, in denen reine IES-Lösungen bereits Krümmungen von 5° und mehr zeigen. Eine Zugabe weiterer wachstumsfördernder Substanzen, sei es nun IES oder natürlicher Wuchsstoff mit ähnlichen Eigenschaften wie IES, macht sich dann in einem weiteren Anstieg der Krümmungswerte bemerkbar.

Tabelle 2. *Mittelwerte der Abfangversuche mit unteroptimaler IES-Vorlage*

Abfangdauer Std	IES-Konzentration	IES-Kontrolle	Wurzelspitzen	Plumulae
2	$5:10^8$	8,6°	16,9°	14,8°
2	$5:10^8$	6,8°	12,5°	7,7°
3	$5:10^8$	4,6°	11,3°	9,5°
2	$5:10^8$	9,0°	12,0°	18,8°
2	$5:10^8$	9,4°	11,8°	17,0°
2	$7:10^8$	12,3°	16,5°	16,8°
2	$7:10^8$	15,3°	17,3°	18,0°
2	$7:10^8$	13,0°	14,9°	14,6°
2	$7:10^8$	13,0°	18,1°	—
3	$8:10^8$	11,4°	14,6°	14,7°
2	$1:10^7$	10,4°	12,5°	10,9°
Durchschnittswerte von 230 gemessenen Krümmungen		10,3°	14,4°	14.3°

Durch schwache IES-Konzentrationen hervorgerufene Krümmungen um 9° und weniger wurden durch den aus Wurzelspitzen abfangbaren Wuchsstoff praktisch auf den gleichen Wert verstärkt wie höhere von 11° und mehr, nämlich auf ungefähr 14° (Tabelle 2). Bei den Plumulaversuchen schwankten die erzielten Krümmungswerte dagegen erheblich stärker. Vielleicht ist das so zu erklären, daß in den Plumulae mit deren vorwiegendem Gehalt an Wuchsstoff ein ungepuffertes Wirkstoffsystem vorliegt, während in Wurzelspitzen ein gepuffertes System von Wuchs- und Hemmstoffen vorhanden ist.

b) Versuche mit überoptimaler IES-Vorlage. Durch die Kompensationsteste mit unteroptimaler IES-Vorlage konnte sowohl bei Plumulastückchen als auch bei Wurzelspitzen Wuchsstoff nachgewiesen werden. Da aber in Wurzelspitzen außerdem noch ein Hemmstoff vorzuliegen

schien, wurde zu dessen deutlicher Erkennung den Agar-Präparaten eine überoptimale IES-Lösung zugesetzt. Danach dürfte der geringe Eigenwuchsstoffgehalt der Wurzelspitzen bei der Auswertung im Krümmungstest keine Rolle mehr spielen. Andererseits könnte der Hemmstoff befähigt sein, die auftretenden Wuchsstoffkrümmungen herabzusetzen.

Es wurde mit IES-Konzentrationen von $1:10^6$ und $2:10^6$ gearbeitet. Diese Konzentrationen erwiesen sich in Kontrolluntersuchungen für den Hafertest als überoptimal. Je nach der Jahreszeit lagen die Maxima der Wirkungskurve zwischen $5:10^7$ und $1:10^6$. Insgesamt wurden elf Versuche mit durchschnittlich je 20 Wurzelspitzen oder 20 Plumulastückchen mit überoptimaler IES-Vorlage ausgeführt. Eine Zusammenstellung der Versuchsergebnisse zeigt Tabelle 3.

Tabelle 3. *Mittelwerte der Abfangversuche mit überoptimaler IES-Vorlage*

Vers.-Nr.	Abfangdauer Std	IES-Konzentration	IES-Kontrolle	Wurzelspitzen	Plumulae
1	3	$1:10^6$	34,8°	24,0°	—
2	3	$1:10^6$	32,0°	24,1°	—
3	3	$1:10^6$	24,9°	21,8°	23,9°
4	2	$1:10^6$	33,0°	35,7°	36,0°
5	2	$1:10^6$	34,4°	28,4°	35,3°
6	2	$1:10^6$	38,0°	34,7°	44,1°
7	2	$1:10^6$	44,9°	34,1°	40,1°
8	2	$1:10^6$	35,6°	29,4°	36,5°
9	2	$2:10^6$	25,4°	28,0°	31,0°
10	2	$2:10^6$	25,9°	22,4°	23,5°
11	2	$2:10^6$	21,5°	19,6°	22,1°
Durchschnittswerte aus 11 Versuchen			31,8°	27,4°	—
Durchschnittswerte aus 9 Versuchen (Nr. 3—11)			31,5°	28,2°	32,5°
Zu- bzw. Abnahme gegenüber IES-Kontrolle			—	−4,4°	+1,0°

In den Plumulaversuchen konnte nur eine geringe Krümmungszunahme gegenüber der IES-Kontrolle um durchschnittlich 1,0° festgestellt werden, doch schwankten die ermittelten Werte in den einzelnen Versuchen erheblich. Eine deutliche Zunahme war nur den Versuchen Nr. 6 und 9 zu entnehmen, während in allen übrigen Versuchen die ermittelten Differenzen der Durchschnittswerte zwischen IES-Kontrolle und Plumuladiffusat + IES-Vorlage innerhalb der Fehlergrenze lagen, und die Zugabe von natürlichem Wuchsstoff erwies sich mehr oder minder als wirkungslos.

In den Wurzelspitzenversuchen trat dagegen im Mittel eine deutliche Verminderung der IES-Wirkung auf Haferkoleoptilen ein. Die Abweichung gegenüber der IES-Kontrolle betrug —4,4°, gegenüber den Plumulaversuchen — 5,4°. Mit Ausnahme der Versuche Nr. 4 und 9 wurde in allen Versuchen durch Wurzelspitzendiffusat die Wirksamkeit der IES herabgesetzt.

Besprechung der Ergebnisse der Kompensationsteste mit überoptimaler IES-Vorlage. Aus den Untersuchungen geht hervor, daß die aus Plumulastückchen abgefangenen Stoffe eine unbedeutende Steigerung und

die aus Wurzelspitzen eine deutliche Verminderung der Wirkung reiner IES ergeben. Als Erklärung für die Wirkung der Plumulae wäre etwa anzunehmen, daß im *Vicia faba*-Keimling noch ein anderer Wuchsstoff außer IES vorliegt. Die verstärkten Krümmungen könnten als eine Summierung der Effekte gedeutet werden, denn es ist auffällig, daß Wuchsstoff*gemische* oft besonders wirksam sind (THIMANN 1952). Auch wäre es etwa möglich, daß die geringfügige Steigerung der IES-Krümmungen durch die Anwesenheit von etwa mit der IES um die Plasmawirkorte konkurrierendem Hemmstoff oder auch einem solchen schwächeren Wuchsstoff hervorgerufen würde, der dann praktisch wie eine Verminderung der überoptimalen IES-Konzentration wirkte.

Dem größten Teil der Wurzelspitzenversuche ist dagegen zu entnehmen, daß die Wirkung der IES durch die abgefangenen Substanzen vermindert wird. Da die Wurzelspitzen selbst nur wenig abfangbaren Wuchsstoff besitzen, kommt eine Hemmung durch übergroße Wuchsstoffkonzentrationen nicht in Betracht. (Bei dem Plumulaversuch Nr. 7 hingegen könnte man an eine übergroße Wuchsstoffwirkung denken, da auch der durchschnittliche Krümmungswert der IES-Kontrolle besonders hoch liegt.) Die Hemmwirkung der Wurzelspitzen wird daher jedenfalls durch einen Hemmstoff hervorgerufen, auf dessen Anwesenheit bereits die Abfangversuche ohne IES-Zugabe hindeuteten. Es liegt nahe, bei den Wurzelspitzenversuchen zu vermuten, daß es sich um keinen mit Wuchsstoff um die Wirkorte im Plasma konkurrierenden Hemmstoff handelt, da dieser ja die durch *über*optimale IES-Konzentrationen hervorgerufenen Krümmungen steigern müßte. Dieser Wurzelhemmstoff besitzt also vermutlich einen eigenen Angriffspunkt auf das wachsende System und wirkt nicht durch Wuchsstoffverdrängung.

B. Papierchromatographische Untersuchungen von Wurzelspitzen- und Plumula-Rohextrakten

Naturgemäß gestattet die Agar-Abfangmethode nur einen Nachweis des in wirksamer Form vorliegenden Wuchsstoffes. Sie erfaßt in Verbindung mit dem Hafertest gewissermaßen die „Resultante" von Wuchs- und Hemmstoffen (SÖDING 1952). In Verbindung mit dem Kompensationstest erlaubt sie auch noch, wie eben gezeigt, die Erkennung der gleichzeitigen Anwesenheit von Wuchs- und Hemmstoffen. Eine genauere und qualitative Aussage über die einzelnen Stoffe kann erst durch die papierchromatographische Analyse bei der Bestimmung der einzelnen im *Vicia faba*-Keimling vorliegenden Wirkstoffe gemacht werden.

I. Material und Methodik

Verarbeitet wurden die Pflänzchen im Alter von 4 Tagen, vom Einquellen der Samen an gerechnet. Den Wurzeln wurden die ersten 5 mm der Spitzen abgeschnitten und $1^1/_2$—2 Std in Aqua bidest. ausgelaugt. Zur Gewinnung des Plumuladiffusates wurden den jungen Keimlingen die Sproßanlagen herauspräpariert und

ebenfalls $1^1/_2$—2 Std in Aqua bidest. gelassen. In einigen Versuchen wurden die Gewebestückchen bei einem p_H-Wert des Wassers von 3,0—3,5 oder 7,5—8,0 extrahiert.

Um eine bessere Diffusion der Wirkstoffe in das Extraktionsmittel zu erzielen, wurden sowohl Wurzelspitzen als auch Plumulastückchen in der Mitte längs durchschnitten. Das Rohdiffusat von 80 Wurzelspitzen oder 80 Plumulastückchen je Versuch wurde auf dem Wasserbad eingedampft. Nach dem Abdampfen blieben bisweilen sirupartige, braune Rückstände in den Porzellanschälchen übrig. Das war besonders bei der Extraktion der substanzreicheren Wurzelspitzen der Fall. Auf eine Vorreinigung der Extrakte wurde jedoch verzichtet, um nicht von vornherein durch eine unterschiedliche Behandlung die Vergleichsmöglichkeit der einzelnen Serien zu gefährden. Um nicht durch die Vorbehandlung der Diffusate oder ihrer Rückstände bestimmte Substanzen oder Substanzgruppen auszuschließen, wurde das zur Trockne eingedampfte Diffusat ohne weitere Vorbehandlung mit etwas Lösungsmittel aufgenommen und auf das Chromatographierpapier aufgetragen. Die Substanzen wurden nach der Methode der absteigenden Papierchromatographie von CRAMER (1954) getrennt. Als Chromatographierpapier diente die Sorte 2043b mgl der Firma Schleicher & Schüll. Die Papierbahnen wurden mit der Chromatographierflüssigkeit mehrmals vorgewaschen. Diese Vorreinigung erfolgte 1—2 Tage lang durch absteigende Chromatographie, wobei das Lösungsmittel durchlief.

Als Kontrollsubstanz liefen neben den Extraktbahnen stets 4—5 μg synthetische IES mit. Die Bahnen der synthetischen IES, der Wurzelspitzen- und Plumulaextrakte waren durch 3 mm breite, aus dem Papier geschnittene Schlitze voneinander getrennt. Die Lage der synthetischen IES auf dem Kontrollstreifen konnte durch Besprühen mit Perchlorsäure-Eisenchlorid-Lösung (nach GORDON und WEBER 1951) festgestellt werden.

Als Chromatographierflüssigkeit diente ein n-Butanol-Aqua bidest.-Ammoniak-Gemisch im Verhältnis 10:10:1 (obere Phase). Nach 7—8 Std hatte das Gemisch eine Strecke von etwa 20 cm durchlaufen. Die Chromatogramme liefen im Dunkeln in einem temperaturkonstanten Raum.

Für die Elution wurden die Extraktbahnen vom Start bis zur Lösungsmittelfront in zehn gleich große Abschnitte geteilt, die mit 5 cm^3 20%igem Äthylalkohol 1 Std in Porzellanschälchen eluiert wurden. Die Auftragestelle des Extraktes am Start war von der Elution ausgenommen. Die Eluate wurden auf dem Wasserbad abgedampft und die Rückstände mit etwas 20%igem Äthanol gelöst und auf je vier Agarwürfel aufgetragen. *Ein* Agarwürfel enthielt somit den Extrakt von 20 Wurzelspitzen oder 20 Plumulastückchen. Aus der vom Lösungsmittel durchtränkten Zone unterhalb der Startlinie wurde ein Abschnitt herausgenommen und wie die der Extraktbahn eluiert. Das Eluat dieser „leeren Zone" wurde ebenfalls auf vier Agarwürfel aufgetragen, die als Kontrollpräparate beim Test dienten. In einigen Fällen wurden (nach BOHLING 1959) Blindchromatogramme, d.h. solche, bei denen gar keine Substanz aufgetragen worden war, in der gleichen Weise wie die Extraktbahnen im Test geprüft. Diese Papierkontrollen ergaben gelegentlich ein etwas geringeres Wachstum als reiner Agar. Auch längeres Vorreinigen des Papiers über 2—4 Tage lieferte keine wesentliche Besserung. Die Beurteilung von Hemmstoffwirkungen der einzelnen Chromatogrammabschnitte mußte also mit der nötigen Vorsicht erfolgen. Für die biologische Auswertung der Chromatogramme dienten der Hafer-Krümmungstest, der Zylindertest nach FUNKE und SÖDING (1948) und der Wurzelspitzentest nach PILET (1958).

Als direkter Nachweis für spezifische Hemmstoffe ist der Krümmungstest wegen seiner geringen Empfindlichkeit jedoch nicht geeignet. Er wurde nur zur Auswertung der Plumula-Chromatogramme angewandt, da die Agarabfangversuche in Plumulastückchen fast ausschließlich Wuchsstoffe vermuten ließen.

Um dort etwa vorkommende Hemmstoffe ebenfalls erfassen zu können, wurden in einigen Versuchen auch IES-Vorlagen von $1:10^7$ und $2:10^7$ gegeben. Die Untersuchungen der Wurzelspitzenchromatogramme wurden mit dem Zylindertest oder dem Wurzelspitzentest ausgeführt. Diese Teste gestatten auch den Nachweis von Hemmstoffen. Der Zylindertest mit Agarwürfeln wurde in der von SÖDING (1952) angegebenen Weise durchgeführt. Die Ablesungen erfolgten nach 0, 3, 6, und 24 Std, in einigen Versuchen auch nach 0 und 24 Std.

Die Wurzelspitzenteste wurden in Anlehnung an die Versuchsmethoden von BENNET-CLARK und KEFFORD (1953) und PILET (1958) ausgeführt. Auf die wuchsstoffhaltigen Agarwürfel wurden Wurzelspitzen von 6 mm Länge von 4 Tage alten *Vicia faba*-Keimlingen mit etwas Gelatine aufgeklebt und die Längenzunahme der Strecke zwischen zwei Markierungen gemessen. Die Markierungen wurden mit einer Aufschwemmung von Kohle in Paraffinöl hergestellt und befanden sich etwa 1,5 mm von den beiden Enden der Wurzelspitzen entfernt. Das Ganze wurde in eine feuchte Kammer gebracht. In einigen Versuchen wurden die Wurzelspitzen auch unmittelbar mit etwas flüssiger Gelatine direkt auf die einzelnen Chromatogrammabschnitte aufgeklebt.

II. Versuchsergebnisse

1. Chromatographie der Plumula-Rohextrakte. Ganz allgemein zeigte sich in den Krümmungstesten eine starke Förderwirkung durch diejenigen Chromatogrammabschnitte, deren R_f-Wert recht gut mit dem der synthetischen IES übereinstimmte. Es handelt sich bei diesem Wuchsstoff also vermutlich um IES. Die Wuchsstoffwirkungen waren in allen Versuchen sehr deutlich und konnten durch Zonen mit R_f-Werten von 0,15—0,35 hervorgerufen werden. Der durchschnittliche R_f-Wert der Kontrollsubstanz und der natürlichen IES lag bei etwa R_f 0,25. Die Schwankungen in der Lage des IES-Maximums werden nach SCHAUER und BULIRSCH (1955) durch die bisweilen etwas uneinheitlichen Laufzeiten des Lösungsmittels erklärt. Geringere Förderungen der Testkoleoptilen wurden mitunter durch Zonen mit R_f-Werten von 0,85—0,9 und von 0,65 hervorgerufen.

In drei von zwölf Versuchen zeigte sich deutlich eine Wuchsstoffwirkung durch den Abschnitt mit dem R_f 0,65. Vielleicht handelt es sich hierbei um den „3. Koleoptilwuchsstoff" von BOHLING (1959). Auch HOUSLEY, BOOTH und PHILLIPS (1956) geben für den Mais einen Wuchsstoff mit diesem R_f-Wert an.

Der Wuchsstoff mit R_f-Werten zwischen 0,85 und 0,9 wurde in sechs von zwölf Versuchen mit Sicherheit festgestellt. Wuchsstoffe mit ähnlichem R_f sind bei Chromatographie mit n-Butanol—Aqua bidest.—Ammoniak wiederum von HOUSLEY, BOOTH und PHILLIPS (1956) für Mais und von LUCKWILL (1957) für den Apfel beschrieben worden („*Malus* auxin 3"). Nach BENNET-CLARK und KEFFORD (1953) ist der letzte Wuchsstoff an der Front wahrscheinlich Indolacetonitril.

In zehn von zwölf Versuchen wurden durch Chromatogrammabschnitte mit einem durchschnittlichen R_f von 0,45 im Krümmungstest

geringe Hemmwirkungen in Gestalt positiver Krümmungen oder, bei IES-Vorlage, verminderter Wuchsstoffkrümmungen erzielt. Die Zone dieser Hemmwirkungen lag fast allgemein direkt hinter der Zone der IES-Wirksamkeit. Um eine Hemmwirkung durch das Chromatographierpapier an dieser Stelle auszuschließen, wurden Blindchromatogramme dieser und anderer Zonen untersucht. Eine Hemmung durch das Papier konnte an dieser Stelle nicht nachgewiesen werden. Es muß sich also hier um eine aus den Plumulaextrakten gewonnene Substanz handeln. Ein Hemmstoff mit ähnlichem R_f-Wert wurde bei Chromatographie mit dem gleichen Lösungsmittel von LUCKWILL (1957) als „*Malus* inhibitor 2" bezeichnet und seine Eigenschaft als ein echter Hemmstoff bestätigt. In chromatographisch untersuchten Extrakten von *Vicia faba* wurde von KEFFORD (1955) bei Verwendung eines Isopropanol — Aqua bidest. — Ammoniak-Gemisches im Anschluß an den IES-Gipfel ebenfalls ein Hemmstoff gefunden. Dieser Hemmstoff wird in Anlehnung an Versuche von BENNET-CLARK und KEFFORD (1953) als „inhibitor β" bezeichnet. Vermutlich wird dieser „inhibitor β" bei Chromatographie mit n-Butanol—Aqua bidest.—Ammoniak bei einem niedrigeren R_f-Wert zu suchen sein, seiner sauren Natur entsprechend (HEMBERG 1958).

Im einzelnen ergab sich aus den Versuchen folgendes Bild:

Sechs Chromatogramme mit Plumulaextrakt wurden im Krümmungstest ohne IES-Vorlage untersucht. Den Verlauf eines typischen Chromatogramms zeigt Abb. 1.

Der Hauptwuchsstoff der Plumula ist die IES. Eine weitere, wenn auch bedeutend schwächere Wuchsstoffwirkung wird durch Chromatogrammabschnitte mit dem R_f 0,65 hervorgerufen. Gelegentlich macht sich ein Wuchsstoff mit dem R_f 0,85—0,9 bemerkbar. In allen Versuchen zeigt sich im Anschluß an den IES-Gipfel eine Zone mit mehr oder minder deutlich ausgeprägter Hemmwirkung. Die Lage dieses Hemmstoffes schwankt in den einzelnen Versuchen zwischen R_f 0,35 und 0,55, da auch die R_f-Werte der IES nicht immer einheitlich sind. Der Hemmstoff macht sich in positiven Krümmungen bemerkbar, die in einigen Versuchen an den Testkoleoptilen Krümmungen bis zu $+7^0$ hervorrufen können, und die nicht auf Verunreinigungen des Papiers zurückzuführen sind. Anders ist es bei den Hemmwirkungen in der Zone am Start, die sich gelegentlich in den ersten beiden Chromatogrammabschnitten bemerkbar machen. Nach BOHLING (1959) handelt es sich hierbei nicht unbedingt um eine wachstumshemmende Wirkung durch das Papier, sondern vielmehr werden osmotische Wirkungen von Zuckern und Alkali- oder Erdalkalisalzen des Rohextraktes für die Hemmung verantwortlich gemacht. Um einen „echten" Hemmstoff der *Vicia faba*-Keimlinge dürfte es sich hierbei also nicht handeln.

In sechs Versuchen wurde den Agarpräparaten vor dem Test eine Vorlage von synthetischer IES ($1:10^7$ oder $2:10^7$) zugesetzt. Als Kontrolle diente eine Agarserie mit dem Eluat reinen, vorgewaschenen Chromatographierpapiers und der entsprechenden IES-Lösungen. Ein typisches Chromatogramm wurde in Abb. 2 dargestellt.

Der IES-Gipfel tritt in allen Versuchen deutlich hervor. Die Wuchsstoffe mit dem R_f 0,65 und 0,85—0,9 sind nur der Hälfte der Versuche mit Sicherheit zu entnehmen. Durch die IES-Zugabe zu den Agar-

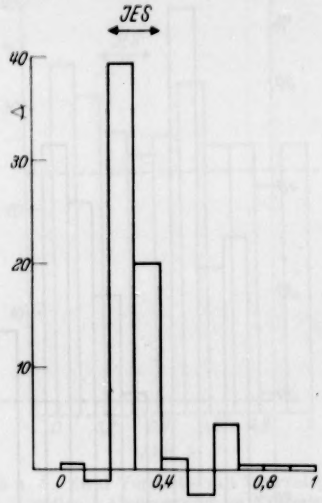


Abb. 1

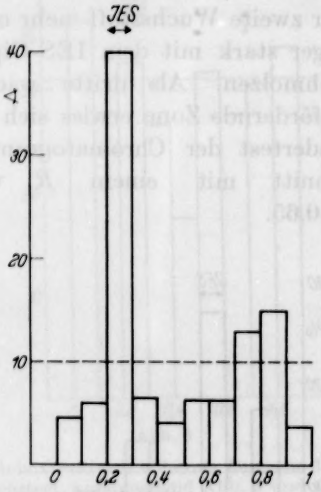


Abb. 2

Abb. 1. Wirkungskurve eines Chromatogramms mit Plumula-Rohextrakt. Chromatographie mit n-Butanol — Aqua bidest. — Ammoniak 10:10:1. Abszisse: Die den R_f-Werten entsprechenden Chromatogrammabschnitte. Ordinate: Krümmungsgrade der Test koleoptilen. Der Doppelpfeil gibt die Lage der synthetischen IES auf dem Chromatogramm an

Abb. 2. Wirkungskurve eines Chromatogramms mit Plumula- Rohextrakt, entsprechend Abb. 1. Die unterbrochene Linie gibt die entsprechenden Krümmungen der Kontrolle an

präparaten war es möglich, den Hemmstoff (R_f 0,45—0,55) deutlicher zu erfassen. Eine Hemmung gegenüber der Kontrolle ist in vier Versuchen klar zu erkennen.

Alkalische oder saure Elution der Chromatogrammabschnitte (bei p_H 3,5 bis 4,0 oder 7,5—8,0) ließ keine Unterschiede in den Ergebnissen erkennen.

2. Chromatographie der Wurzelspitzen-Rohextrakte. *a) Zylinderteste.* Die Agarabfangversuche mit Wurzelspitzen hatten gezeigt, daß in Wurzelspitzen von *Vicia faba* außer Wuchsstoff auch ein Hemmstoff oder Hemmstoff-System vorliegt, das die Wuchsstoffwirkung der synthetischen IES-Vorlage im Krümmungstest herabzusetzen vermag. Aus diesem Grunde wurde die Wirksamkeit der einzelnen Papier-Chromatogrammabschnitte im für Hemmstoffe wesentlich geeigneteren Zylindertest

geprüft (insgesamt elf Versuche). Es ergab sich ein recht gut übereinstimmendes Bild, wenn man von der Wirksamkeit der IES in einzelnen Versuchen absieht. Die Abb. 3 und 4 wurden als Beispiele für diejenigen Versuche ausgewählt, die an der Stelle der IES eine deutliche Förderwirkung im Zylindertest zeigen.

Die Lage des Wuchsstoffmaximums entspricht der des IES-Kontrollstreifens. Eine weitere, wenn auch geringere Wachstumswirkung geht von den Abschnitten mit R_f-Werten von 0,1—0,2 aus, doch ist dieser zweite Wuchsstoff mehr oder weniger stark mit dem IES-Gipfel verschmolzen. Als dritte wachstumsfördernde Zone erwies sich im Zylindertest der Chromatogrammabschnitt mit einem R_f von 0,6—0,65.

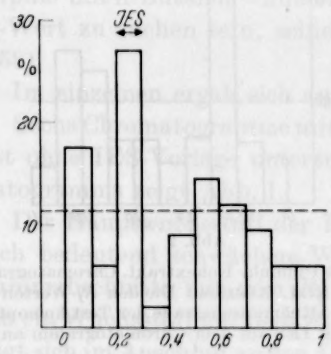


Abb. 3

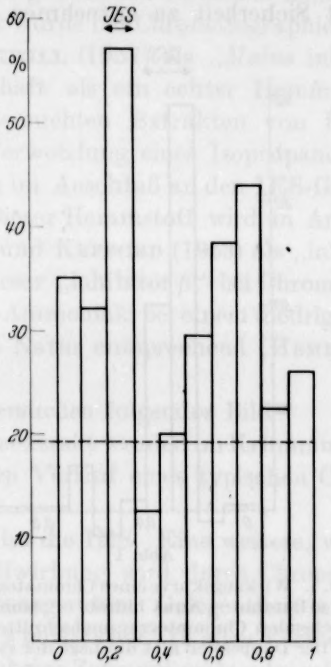


Abb. 4

Abb. 3 u. 4. Zwei Versuche mit Wurzelspitzen-Rohextrakt. Auswertung im *Zylinder*-Zuwachstest. Abszisse: Die den R_f-Werten entsprechenden Chromatogrammabschnitte. Ordinate: Zuwachs der Testzylinder in Prozent der Ausgangslänge. Die unterbrochenen Linien geben den prozentualen Zuwachs der Kontrollen an. Bei relativ geringem Zuwachs der Kontrollen ist die Förderwirkung an der Stelle der IES deutlich

Außer diesen drei Wuchsstoffen ist in den Chromatogrammen ein Hemmstoff mit dem R_f zwischen 0,35 und 0,55 erkennbar, dessen Lage entsprechend einem etwas höheren oder niedrigeren R_f-Wert der IES schwankt. Es liegt nahe, in diesem Hemmstoff den von BENNET-CLARK und KEFFORD (1953) beschriebenen „inhibitor β" zu vermuten.

Einige Versuche zeigen auch bei R_f-Werten von 0,9—1,0 eine Hemmwirkung, doch scheint es sich hierbei nicht eindeutig um einen spezifischen Hemmstoff zu handeln, da diese Chromatogrammabschnitte an der Front das Wachstum der Koleoptilen auch fördern oder unbeeinflußt lassen können.

Der durchschnittliche prozentuale Zuwachs der Kontroll-Koleoptilen betrug in diesen Versuchen etwa 13%.

In fünf weiteren Versuchen, von denen in den Abb. 5 und 6 zwei ausgewählt wurden, zeigt sich an dieser Stelle der IES (R_f 0,25) keine Wachstumsförderung der Koleoptilzylinder. In diesen Versuchen war der Zuwachs durch die Kontrollen relativ groß, er lag im Mittel zwischen 20 und 30%. Man muß demnach annehmen, daß die Koleoptilzylinder während des Testes einen großen Eigenwuchsstoffgehalt besaßen, so

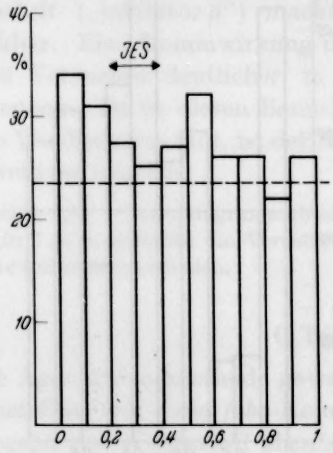


Abb. 5

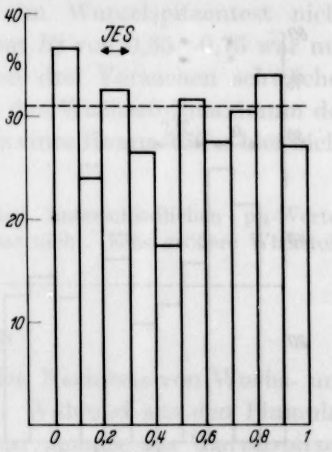


Abb. 6

Abb. 5 u. 6. Zwei Versuche mit Wurzelspitzen-Rohextrakt mit höherem Zuwachs der Kontrollen. Auswertung im *Zylinder*-Zuwachstest, entsprechend Abb. 3 und 4

daß bei weiterer Zugabe von IES aus den entsprechenden Chromatogrammabschnitten ein Überangebot an IES vorlag. Eine zusätzliche Wachstumsförderung unterblieb demnach.

Für die Wirkung der beiden anderen Wuchsstoffe mit den R_f-Werten von 0,15 und 0,6 war das starke Eigenwachstum der Koleoptilzylinder ohne Bedeutung. Besonders der Wuchsstoff am Start war in allen Fällen erkennbar.

Der Hemmstoff (R_f 0,45) tritt nur gelegentlich deutlicher in Erscheinung.

b) Wurzelspitzenteste. In chromatographischen Arbeiten wird des öfteren ein Wurzelwuchsstoff beschrieben, dessen R_f-Wert dicht hinter dem Startpunkt der Extraktbahn liegt (Bennet-Clark und Kefford 1953; Lexander 1953; Britton, Housley und Bentley 1956; Pilet 1958). Von Bennet-Clark und Kefford wurde dieser Wuchsstoff als „accelerator α" bezeichnet (vielleicht identisch mit dem „zweiten Wurzelwuchsstoff" von Bohling 1959). Dieser Wirkstoff wird mitunter als der charakteristische Wuchsstoff für das Streckungswachstum der Wurzel

angesehen, und es lag daher nahe, diesen Wuchsstoff auch in einem Wurzelwachstumstest zu untersuchen. Von zehn Chromatogrammwirkungskurven sind in den Abb. 7 und 8 zwei typische ausgewählt worden.

Die Teste zeigten als klarstes Ergebnis an der Stelle der IES keine deutlichen Wuchsstoffwirkungen. Es traten vielmehr mitunter sogar sehr klare Hemmungen auf. Dieses Ergebnis entspricht der Tatsache,

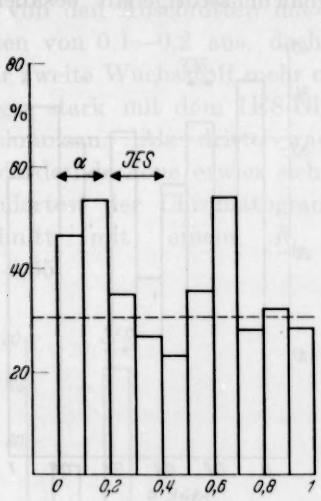


Abb. 7

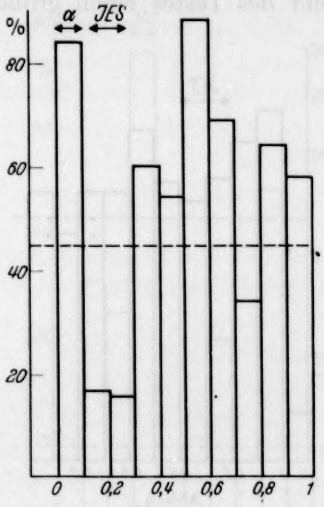


Abb. 8

Abb. 7 u. 8. Zwei Versuche mit Wurzelspitzen-Rohextrakt. Auswertung im *Wurzelspitzen*-Zuwachstest. Abszisse: Die den R_f-Werten entsprechenden Chromatogrammabschnitte. Ordinate: Zuwachs der Wurzelspitzen in Prozent der Ausgangslänge. Die unterbrochenen Linien geben den prozentualen Zuwachs der Kontrollen („leere" Chromatogrammabschnitte oder reiner Agar) an

daß IES-Zugabe zu lebenden Wurzeln bekanntlich das Wachstum vermindert, da die Wurzel genügend Eigenwuchsstoff besitzt und auf vermehrte Zugabe von außen wegen ihrer großen Empfindlichkeit negativ reagiert.

In der Startzone der Chromatogramme macht sich dagegen ein Wuchsstoff bemerkbar, der auch im Zylindertest als zweiter Wuchsstoff das Wachstum der Koleoptilen förderte, im Wurzelspitzentest aber besonders wirksam zu sein scheint.

Sehr deutlich ergab sich in acht von zehn Versuchen eine stark fördernde Wirkung der Chromatogrammabschnitte mit R_f-Werten zwischen 0,65 und 0,75. Jedenfalls handelt es sich hier um denselben Wuchsstoff, der auch im Zylindertest fördernd wirkt.

Eine Wachstumsförderung durch Abschnitte mit R_f-Werten von 0,85 ist vier Versuchen zu entnehmen, während an der gleichen Stelle auch

auffallende Hemmungen oder gegenüber den Kontrollen keine Wirkungen auftreten können. Es ist zu vermuten, daß hier zwei miteinander um die Wirksamkeit konkurrierende Substanzen vorliegen, von denen sich einmal der Wuchsstoff, einmal der Hemmstoff im Test durchzusetzen vermag, während im allgemeinen durch ein Gleichgewicht beider Substanzen keine auffallenden Wirkungen hervorgerufen werden.

Der in den Krümmungstesten mit Plumula-Extrakt und den Zylindertesten mit Wurzelspitzenextrakt bei einem R_f von 0,45 aufgetretene Hemmstoff („inhibitor β") machte sich im Wurzelspitzentest nicht bemerkbar. Eine Hemmwirkung mit einem *Rf* von 0,65—0,75 war nur in zwei Versuchen deutlicher, in weiteren drei Versuchen schwächer zu erkennen. Da in diesen Bereich auch das Wuchsstoffmaximum des dritten Wuchsstoffes fällt, ist der Nachweis eines Hemmstoffes hier nicht ohne weiteres möglich.

Elution der Chromatogrammabschnitte bei unterschiedlichen p_H-Werten (3,5; 5,0; 7,5) beeinflußte die Versuchsergebnisse nicht. Eine größere Wirkstoffausbeute war nicht zu erzielen.

C. Diskussion

Die Agar-Abfangmethode gestattete den Nachweis von Wuchs- und Hemmstoffen von *Vicia faba*-Keimlingen. Während aus den Plumulae vorwiegend nur Wuchsstoff abzufangen war, konnte aus Wurzelspitzen sowohl Wuchs- als auch Hemmstoff gewonnen werden. Die Plumulaversuche ließen neben IES auf einen zweiten wachstumsfördernden Wirkstoff schließen. Der in Wurzelspitzen nachweisbare Hemmstoff wirkt vermutlich nicht durch Wuchsstoffverdrängung, sondern besitzt einen eigenen Angriffspunkt auf das wachsende System.

Die chromatographischen Untersuchungen zeigen sowohl für Wurzelspitzen als auch für Plumulastückchen einen Wuchsstoff an der Stelle der IES, jedoch kommt dieser Wuchsstoff in den Plumulaversuchen deutlicher zum Ausdruck. Daß IES an der Regulation des Wurzelwachstums beteiligt ist, geben auch Lexander (1953), Kefford (1955), Libbert (1957), Pilet (1958) und Bohling (1959) an.

Nach Abschluß der Untersuchungen erschien die Arbeit von Lahiri und Audus (1960), in der ebenfalls in der *Faba*-Wurzel bei Chromatographie mit einem anderen Gemisch (Isobutanol-Methanol-Wasser) an der Stelle der IES ein Wuchsstoff gefunden wurde, der das Wurzelspitzenwachstum hemmt. Dieser Stoff wirkte aber nur 5000mal so schwach wie IES, und er wird von den Autoren deshalb nicht für IES gehalten. Nach Lahiri und Audus kann aber über die Natur dieses Stoffes so lange keine *sichere* Aussage gemacht werden, als keine chemische Analyse darüber vorliegt. Da nun in Wurzeln wiederholt an der

Stelle der IES ein Wuchsstoff gefunden wurde, möchte ich doch annehmen, daß in meinen Versuchen tatsächlich IES vorgelegen hat. Um welchen Stoff es sich in den Versuchen von LAHIRI und AUDUS gehandelt hat, möchte ich offenlassen.

Ein unterschiedliches Verhalten zeigen Chromatogrammabschnitte mit dem R_f-Wert 0,1—0,15 bei Plumula- und Wurzelspitzenversuchen. Während aus Plumula-Extrakten, im Gegensatz zu den Ergebnissen KEFFORDs (1955), in keinem Versuch dieser Start-Wuchsstoff zu gewinnen war, zeigten Wurzelspitzen-Extrakte diesen Wuchsstoff sehr deutlich. Diese wachstumsfördernde Wirkung kommt besonders klar in den Wurzelspitzentesten zum Ausdruck. Es handelt sich also um eine Substanz, die in Wurzelspitzen vorliegt und das Wurzelwachstum fördert. Einen derartigen startnahen Wurzelwuchsstoff beschreiben BENNET-CLARK und KEFFORD (1953) für Mais, LEXANDER (1953) für Weizen, KEFFORD (1955) für *Pisum* und *Vicia faba*, AUDUS und GUNNING (1958) für *Pisum*, PILET (1958) für *Lens culinaris*, LAHIRI und AUDUS (1960) für *Vicia faba*; ähnlich auch BOHLING (1959) für *Avena*.

Es ist wohl anzunehmen, daß es sich in allen Fällen um dieselbe Substanz handelt, die von BENNET-CLARK und KEFFORD als „accelerator α" bezeichnet wurde. Sie hatte bei Chromatographie mit Isopropanol-Wasser-Ammoniak einen R_f von 0,1; bei Chromatographie mit Butanol-Wasser-Ammoniak fand LEXANDER diesen zweiten Wuchsstoff bei einem R_f unter 0,1. Eine Identität meines Startwuchsstoffes mit diesen Substanzen ist anzunehmen. Dieser „accelerator α" ist nach KEFFORD unter Umständen „der" spezifische Wurzelwuchsstoff für *Vicia faba*.

Außer IES und „accelerator α" konnten in Plumulae und Wurzelspitzen weitere Wuchsstoffe nachgewiesen werden. Übereinstimmend wurde bei einem R_f-Wert von 0,65—0,75 ein Stoff gefunden, der sowohl im Krümmungstest als auch im Zylindertest wachstumsfördernd wirkte. Es ist anzunehmen, daß es sich hierbei um die von BOHLING (1959) als „dritten Koleoptilwuchsstoff" und „dritten Wurzelwuchsstoff" beschriebene Substanz handelt, die auch von RAADTS und SÖDING (1957) bei Chromatographie mit Butanol-Wasser-Ammoniak nachgewiesen worden war. Das chemische Verhalten dieses Wuchsstoffes ist noch wenig bekannt, doch wird von RAADTS und SÖDING und von BOHLING eine neutrale Substanz vermutet, die durch Umwandlung in eine aktive Substanz im Test wirksam wird. Dieser Stoff könnte mit Indolacetamid oder Indolacetaldehyd identisch sein (BOHLING).

Der vierte Wuchsstoff mit einem R_f von 0,85—0,9 konnte sowohl im Wurzelspitzen- als auch im Plumula-Diffusat wahrscheinlich gemacht werden. Ein frontnaher Wuchsstoff wurde auch von LUCKWILL (1957)

in Äpfeln gefunden und als „*Malus* auxin 3" beschrieben. Dieser Front-Wuchsstoff wird von BENNET-CLARK und KEFFORD (1953) und MURAKAMI (1959) als Indolacetonitril angesehen.

Es ist nicht einfach zu klären, weshalb in einzelnen Versuchen ein bis zwei der Wuchsstoffe nicht nachzuweisen sind. Daß die Wuchsstoffe zwei und drei nicht jedem Versuch zu entnehmen sind, läßt vermuten, „daß es sich um Substanzen handelt, die erst unter im einzelnen noch nicht bekannten, jeweils offenbar verschiedenen Bedingungen wirksam werden" (BOHLING). Daß im Zylindertest nicht immer eine Wachstumsförderung durch Zugabe von IES einsetzt, wird auf das große Eigenwachstum der Koleoptilzylinder in diesen Versuchen zurückgeführt. Die überoptimale IES-Dosis macht sich dann in einer Wachstumshemmung bemerkbar.

Durch die Auswertung der Chromatogramme im Krümmungs- und Zylindertest konnte in Plumulae und Wurzelspitzen ein Hemmstoff mit dem R_f von 0,45 nachgewiesen werden. Dieser Hemmstoff entspricht dem von BENNET-CLARK und KEFFORD (1953) und von KEFFORD (1955) beschriebenen „inhibitor β". Durch Chromatographie mit Butanol-Wasser-Ammoniak konnte von LUCKWILL (1957) aus Äpfeln der gleiche Hemmstoff gewonnen werden, der als „*Malus* inhibitor 2" beschrieben wurde. In meinen Versuchen setzte dieser Stoff die Wirksamkeit der IES im Krümmungstest herab und hemmte das Wachstum der Testkoleoptil-Zylinder. Andererseits wirkte er nicht hemmend auf das Wurzelspitzenwachstum ein, da Wurzelspitzen auf Zugabe von „inhibitor β" nicht mit einer Wachstumshemmung reagierten. Nach KEFFORD (1955) wirkt „inhibitor β" aber hemmend auf *Pisum*-Wurzeln. Allerdings ist die hemmende Wirkung schwächer als die von IES. Die Ergebnisse weisen also gewisse Unterschiede auf je nach Pflanzenart und Untersuchungsmethode.

Nach LIBBERT (1957) sollen intakte Wurzeln an den Sproß einen Hemmstoff abgeben, selbst aber durch einen zweiten Hemmstoff („Hemmstoff B") gesteuert werden. Man darf daher vielleicht annehmen, daß die im Wurzelspitzentest mitunter beobachtete Hemmwirkung bei einem R_f von 0,65—0,75 auf einen weiteren Hemmstoff zurückgeht.

Durch Chromatographie mit Isopropanol-Wasser-Ammoniak wurde von PILET (1958) in Wurzelspitzen-Extrakten von *Lens culinaris* ein Hemmstoff mit dem R_f von 0,70—0,85 ermittelt. Bei Chromatographie mit Butanol-Wasser-Ammoniak dürfte der R_f-Wert dieses Hemmstoffes, saure Natur vorausgesetzt, vielleicht bei 0,65—0,75 zu suchen sein. Von LEXANDER (1933) konnte ein solcher Hemmstoff bei Weizenwurzeln gefunden und aus saurer Lösung mit Äther ausgeschüttelt werden. Mit diesem Hemmstoff dürfte die von mir in den Wurzelspitzen gefundene wachstumshemmende Substanz mit dem R_f 0,65—0,75 identisch sein.

Im ganzen ergibt sich also eine Bestätigung und eine weiterer Ausbau der aus den Ergebnissen der Abfangmethode und der Kompensationsteste im ersten Teil der Arbeit gezogenen Schlüsse durch die Chromatographie. Die beiden Methoden ergänzen sich gegenseitig: Die Chromatographie zeigt die verschiedenen Wuchs- und Hemmstoffe der Wurzelspitzen und Plumulae im einzelnen, ohne aber über das gegenseitige Mengenverhältnis sichere Auskunft geben zu können. Abfangversuche und Kompensationsteste können zwar nicht die einzelnen Komponenten der vorliegenden Wuchs- und Hemmstoffgemische erfassen, zeigen aber klar, daß die Hemmstoffe in diesen Gemischen bei der Wurzel einen höheren Anteil haben als beim Sproß. Weiter zeigen dann die Wurzelspitzenteste, daß die Wurzel auf Wuchsstoffe (IES) und Hemmstoffe (inhibitor β) anders — in den angeführten Fällen schwächer — reagiert als die Haferkoleoptile. Die Kompensationsteste machen es dann wiederum sehr wahrscheinlich, daß die Hemmstoffe — wenigstens zum Teil — nicht durch Wuchsstoffverdrängung von den Wirkorten des Plasmas wirksam sind, sondern einen anderen Angriffspunkt auf das wachsende System besitzen.

Eine Zusammenstellung der R_f-Werte der in *Vicia faba*-Keimlingen durch Chromatographie mit n—Butanol—Aqua bidest.—Ammoniak gefundenen Wuchs- und Hemmstoffe zeigt die folgende Aufstellung:

Tabelle 4

Wurzelspitzen	R_f	Plumulae	R_f
IES	0,25	IES	0,25
2. Wurzel-WS	0,1	2. Plumula-WS	—
3. Wurzel-WS	0,65—0,75	3. Plumula-WS	0,65—0,75
4. Wurzel-WS (?)	0,85—0,90	4. Plumula-WS (?)	0,85—0,90
„inhibitor β"	0,45	„inhibitor β";	0,45
2. Wurzel-HS (?)	0,65—0,75		

Zusammenfassung

Wurzelspitzen und Plumulastückchen von *Vicia faba*-Keimlingen wurden auf ihren Wuchs- und Hemmstoffgehalt untersucht. Durch die Wuchsstoff-Präparate, die mittels der Agar-Abfangmethode aus Wurzelspitzen gewonnen worden waren, konnte im Haferkrümmungstest (mit unter- und überoptimaler IES-Zugabe zu den Präparaten) neben Wuchsstoff ein Hemmstoff nachgewiesen werden, der vermutlich nicht durch Wuchsstoffverdrängung von den plasmatischen Wirkorten angreift.

Die Ergebnisse der Abfangversuche an Plumulastückchen zeigen diesen Hemmstoff nicht, lassen aber auf die Anwesenheit eines von IES verschiedenen Wuchsstoffes schließen.

Die in Wurzelspitzen und Plumulae von *Vicia faba*-Keimlingen vorliegenden Wuchs- und Hemmstoffe wurden papierchromatographisch

untersucht. Zur Auswertung der Ergebnisse wurden der Haferkrümmungstest, der Zylinder-Zuwachstest und der Wurzelspitzen-Zuwachstest herangezogen.

Übereinstimmend konnte sowohl in Wurzelspitzen als auch in Plumulastückchen bei Chromatographie mit n-Butanol—Aqua bidest.—Ammoniak außer IES ein weiterer Wuchsstoff mit dem R_f von 0,65 bis 0,75 nachgewiesen werden. Außerdem ist die Anwesenheit eines Wuchsstoffes mit einem R_f von 0,85—0,9 in beiden Organen zu vermuten. In Wurzelspitzen liegt bei einem Rf von 0,1 ein weiterer Wuchsstoff vor, der als „accelerator α" (nach Bennet-Clark und Kefford 1953) gedeutet wurde und der, im Gegensatz zur IES, eine stark wachstumsfördernde Wirkung auf Wurzelspitzen ausübt.

Deutliche Hemmwirkungen auf Koleoptilzylinder wurden bei Plumula- und Wurzelspitzen-Extrakten durch Zonen mit dem R_f von 0,45 erzielt. Es dürfte sich hierbei um den von Bennet-Clark und Kefford (1953) beschriebenen „inhibitor β" handeln. Auf *Faba*-Wurzelspitzen wirkt dieser Stoff jedoch nicht hemmend.

Als weiterer in Wurzelspitzen gebildeter Hemmstoff war eine Substanz mit dem R_f von 0,65—0,75 zu vermuten.

Dem Direktor des Staatsinstitutes für Allgemeine Botanik in Hamburg, Herrn Prof. Dr. W. Mevius, danke ich für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes und alle damit verbundenen Unterstützungen. Herrn Prof. Dr. H. Söding, der mir das Thema stellte, gilt mein besonderer Dank für sein förderndes Interesse am Fortgang der Arbeit und für seine hilfreichen Anregungen und Hinweise.

Literatur

Audus, L. J., and B. E. S. Gunning: Growth substances in the roots of *Pisum sativum*. Physiol. Plantarum (Cph.) **11**, 685—697 (1958).

Bennet-Clark, T. A. and N. P. Kefford: Chromatography of the growth substances in plant extracts. Nature (Lond.) **171**, 645—647 (1953).

Bohling, H.: Papierchromatographische Untersuchungen über die Wuchs- und Hemmstoffe des Haferkeimlings und des Maisscutellums. Planta (Berl.) **53**, 69—108 (1959).

Boysen Jensen, P.: Über den Nachweis von Wuchsstoff in Wurzeln. Planta (Berl.) **19**, 345—350 (1933).

Britton, G., S. Housley and J. A. Bentley: Studies in plant growth hormones. V. Chromatography of hormones in excised and intact roots of *Tomato* seedlings. J. exp. Bot. **7**, 239—251 (1956).

Cholodny, N.: Über die Bildung und Leitung des Wuchshormons bei den Wurzeln. Planta (Berl.) **21**, 517—530 (1934).

Cramer, F.: Papierchromatographie, 3. Aufl. Weinheim 1954.

Funke, H., u. H. Söding: Über das Wuchsstoff-Hemmstoffsystem der Haferkoleoptile und der Kartoffelknolle. Planta (Berl.) **36**, 341—370 (1948).

Gordon, S. A., and R. P. Weber: Colorimetric estimation of indolacetic acid. Plant Physiol. **26**, 192—195 (1951).

Guttenberg, H. v., u. K. Zetsche: Der Einfluß des Lichtes auf die Auxinbildung und den Auxintransport. Planta (Berl.) **48**, 99—134 (1956).

HEMBERG, T.: The occurrence of acid inhibitors in resting terminal buds of *Fraxinus*. Physiol. Plantarum (Cph.) **11**, 610—614 (1958).

HOUSLEY, S., A. BOOTH and I. D. J. PHILLIPS: Stimulation of coleoptile and root growth by extracts of maize. Nature (Lond.) **178**, 255—256 (1956).

KEFFORD, N. P.: The growth substances separated from plant extracts by chromatography. J. exp. Bot. **6**, 129—151 (1955).

LAHIRI, A. N., and L. J. AUDUS: Growth substances in the roots of *Vicia faba*. J. exp. Bot. **33**, 341—350 (1960).

LEXANDER, K.: Growth regulating substances in the roots of wheat. Physiol. Plant. **6**, 406—411 (1953).

LIBBERT, E.: Die Regulation des Wurzelwachstums durch synthetische und endogene Inhibitoren. Planta (Berl.) **50**, 25—40 (1957).

— Untersuchungen über die Physiologie der Adventivwurzelbildung. III. Z. Bot. **45**, 57—76 (1957).

LINSER, H.: Zur Methodik der Wuchsstoff-Bestimmung. Planta (Berl.) **29**, 392 bis 408 (1939).

LUCKWILL, L. C.: J. Horticult. Sci. **32**, 18—33 (1957).

MURAKAMI, Y.: A paper chromatographic survey of gibberellins and auxins in immature seeds of leguminous plants. Bot. Mag. (Tokyo) **72**, 36—43 (1959).

PILET, P. E.: Etude chromatographique des facteurs de croissance radiculaires. C. R. Acad. Sci. (Paris) **246**, 2399—2401 (1958).

— Analyse biochromatographique des auxines radiculaires. Rev. gén. Bot. **65**, 605—633 (1958).

RAADTS, E., u. H. SÖDING: Chromatographische Untersuchungen über die Wuchsstoffe der Haferkoleoptile. Planta (Berl.) **49**, 47—60 (1957).

RAALTE, M. A. VAN: On factors determining the auxins content of the root tip. Rec. Trav. bot. néerl. **34**, 278—332 (1937).

SCHAUER, H. K., u. R. BULIRSCH: Über Beziehungen zwischen R_f-Wert und chemischer Konstitution organischer Verbindungen in der Papierchromatographie. Z. Naturforsch. **10b**, 683—693 (1955).

SÖDING, H.: Die Wuchsstofflehre. Stuttgart 1952.

—, u. H. FUNKE: Über Empfindlichkeitsschwankungen des Hafertestes und ihre Beziehungen zu Wetterfaktoren. Jb. wiss. Bot. **90**, 1—24 (1942).

STEWART, W. S., W. M. BERGREN and C. E. REDEMANN: A plant growth inhibitor. Science, N.s. **89**, 185—186 (1939).

THIMANN, K. V.: Plant growth hormons. The action of hormones in plants and Invertebrates. New York: Academic Press 1952.

VOSS, H.: Nachweis des inaktiven Wuchsstoffes, eines Wuchsstoffantagonisten und deren wachstumsregulatorische Bedeutung. Planta (Berl.) **30**, 253—285 (1939).

Dr. M. BAYER,
Staatsinstitut für Allgemeine Botanik, Hamburg 36, Jungiusstr. 6

Planta 57, 235—238 (1961)

Kurze Mitteilung

Aus dem Botanischen Institut der Universität München

REVERSIBLE PLASTIDENUMWANDLUNG BEI DER MUTANTE „WEISSHERZ" VON *OENOTHERA SUAVEOLENS* DESF.

Von

FRANZ SCHÖTZ und FRIEDRICH SENSER

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 30 Juni 1961)

Die von W. STUBBE (1955) beschriebene Mutante „Weißherz" von *Oenothera suaveolens* DESF. ist dadurch gekennzeichnet, daß kurz bevor die Rosette in den Blütensproß übergeht, sowie in der ersten Zeit nach dem Eintreten des Schossens die zentralen Rosettenblätter und auch die Blätter des Blütensprosses nicht mehr ergrünen bzw., wenn sie schon grün waren, wieder ausbleichen. Dadurch erhält die Pflanze ein helles Zentrum. Erst einige Wochen später erfolgt ein rasches und fast vollständiges Ergrünen dieser blaßgelben Zonen.

In den basalen, noch meristematischen Teilen der von Anfang an blassen Blätter haben die Plastiden bei mannigfachen Umrißformen einen Durchmesser von 1,0—1,3 μ und enthalten teilweise an ihrem Rand etwa 0,2 μ große, mit Säurefuchsin färbbare Strukturen, deren Gestalt lichtmikroskopisch nicht mehr eindeutig festzulegen ist (Abb. 1 a). Unter Vergrößerung ihres Durchmessers auf etwa 2 μ werden die Plastiden dann allmählich rundlich, die „Randstrukturen" verschwinden, und gleichzeitig läßt sich ein 0,4 μ großer Zentralkörper selektiv mit Säurefuchsin anfärben (Abb. 1 b). Dieser dürfte dem Prolamellarkörper der Elektronenmikroskopiker entsprechen (vgl. etwa MÜHLETHALER und FREY-WYSSLING 1959, v. WETTSTEIN 1958). Diese Entwicklungsstadien treten auch noch bei der Chloroplastenentwicklung in normal grünen Oenotherenblättern auf.

Im Verlauf des weiteren Wachstums, wenn der Plastidendurchmesser 3 μ erreicht hat, wobei der Zentralkörper im Gegensatz zur Normalentwicklung zunächst seine ursprüngliche Größe beibehält, werden am Plastidenrand in größerer Zahl carotinoidhaltige Bläschen gebildet, die sich mit Jodjodkalium grün und mit Nilblausulfat rosa färben (Abb. 1 c). Sie entsprechen somit den von FREY-WYSSLING und KREUTZER in den Chromoplasten der Blütenblätter von *Ranunculus repens* gefundenen Globuli. Erst wenn die Plastiden eine Größe von etwa 5 μ erreicht haben (der Zentralkörper ist dann 0,5—0,7 μ groß) treten neben

den Globuli auch 2—4 Grana auf, die aus dem Zentralkörper entstehen (Abb. 1 d und e). Im Zuge dieser Entwicklung flachen sich die Plastiden so stark ab, daß sie im Endzustand nur noch flächige Häutchen darstellen, an denen die Globuli und Grana deutliche Vorwölbungen bilden (Abb. 1 d).

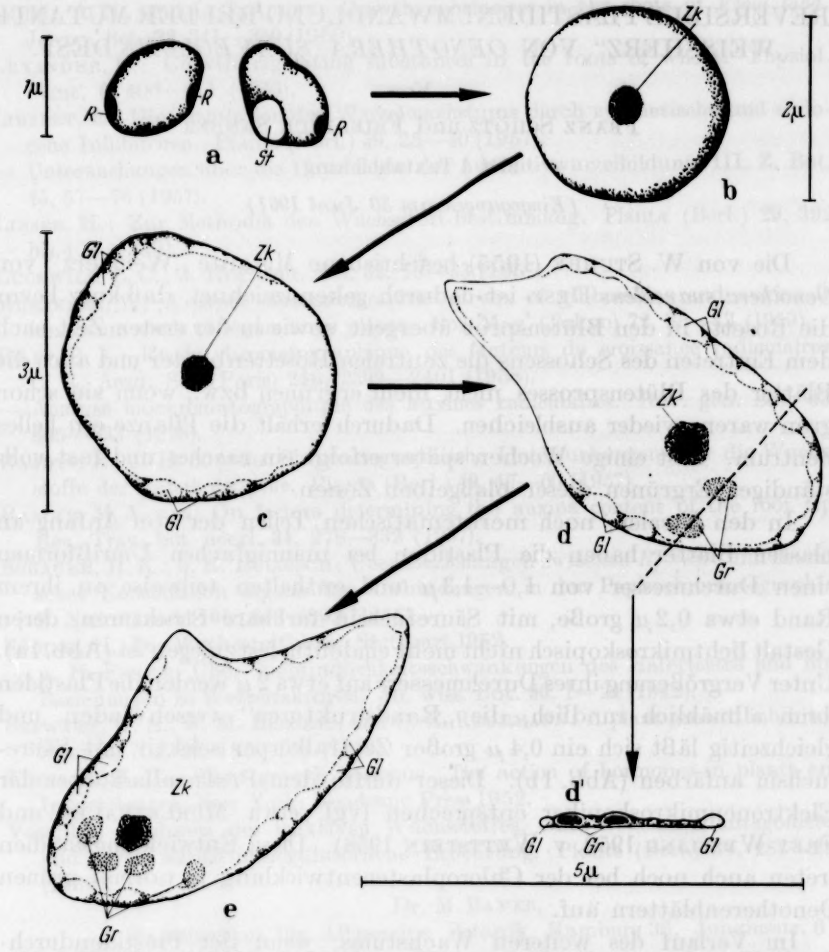


Abb. 1. Plastidenentwicklung in den blassen Blättern von *Oenothera suaveolens* „Weißherz". *R* „Randstrukturen", *ZK* Zentralkörper, *Gl* Globuli, *Gr* Grana, *St* Stärke. Erklärung im Text

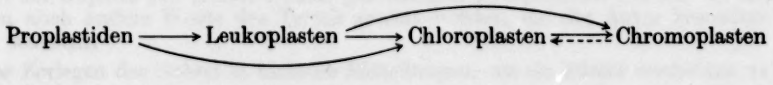
In den erst sekundär ausbleichenden Blatteilen zerfällt während des Ausbleichungsvorgangs die Granaanordnung der vorher normal ausgebildeten Chloroplasten und das Chlorophyll wird abgebaut. Gleichzeitig treten auf der ganzen Chloroplastenoberfläche die erwähnten Globuli auf, und die Plastiden flachen sich, unter Vergrößerung ihres Durchmessers in der Abflachungsebene, sehr stark ab. Es entsteht

dasselbe Endstadium wie bei der direkten Entwicklung. Diese Art der Plastidendegeneration unterscheidet sich sehr stark von den Vacuolisierungsvorgängen, von denen die Plastiden der Oenotheren bei den meisten anderen Ausbleichungsvorgängen betroffen werden (SCHÖTZ 1954, 1955; W. STUBBE 1957).

Bei der Ausbildung der Blüten verläuft die Entwicklung der Chromoplasten in den gelben Blütenblättern aller Oenotheren im Prinzip genau so wie die Plastidenentwicklung in den sekundär ausbleichenden Blättern der *suaveolens* „Weißherz“. Die Plastiden erreichen dort zunächst einen Durchmesser von 3—4 μ und lassen meist etwa 8 Grana aus dem Zentralkörper hervorgehen. Sie sind in diesem Zustand hellgrün. Sodann entstehen, noch vor dem Öffnen der Blüten, an der Plastidenoberfläche die carotinoidhaltigen Globuli; die Plastiden flachen sich ab und werden zu dünnen Plättchen von verschiedener Umrißform, die wieder durch die jetzt randständigen Globuli ausgebuckelt werden. In manchen Fällen scheinen die Chromoplasten aber auch ohne Granabildung unmittelbar aus noch farblosen Plastiden hervorzugehen.

Die Mutante „Weißherz“ nimmt also einen Teil der Blütenentwicklung, nämlich die Chromoplastenbildung bereits im Rosettenstadium voraus, ohne damit allerdings eine morphologische Veränderung der Blätter zu verbinden.

In den Blütenblättern der Oenotheren, wie auch in denen von *Ranunculus* (s. oben) ist die Chromoplastenentwicklung monotrop und findet mit der Ausbildung völlig degenerierter Plastiden, die unter Umständen ihre Globuli durch Aufplatzen freigeben können, ihr Ende. Eine Rückführung dieser Chromoplasten in den Zustand der hochorganisierten Chloroplasten halten FREY-WYSSLING und KREUTZER für ausgeschlossen und sie sehen daher in ihren Befunden einen Gegenbeweis gegen die Schimpersche Hypothese der reversiblen Plastidenumwandlung. In der Mutante „Weißherz“ findet diese reversible Umwandlung jedoch wirklich statt, denn die erwähnte Wiederergrünung der blassen Bezirke geht so vor sich, daß sich die flächig verbreiterten Chromoplasten wieder straffen, d. h. rundlicher, dicker und dafür geringer an Flächenausdehnung werden, und sich unter Reduktion der Globuli in voll strukturierte Chloroplasten weiter-, oder wieder zurückverwandeln. Das von FREY-WYSSLING und KREUTZER gegebene Schema der Plastidenentwicklung wäre deshalb folgendermaßen zu modifizieren:



Eine eingehende lichtmikroskopische Untersuchung der Entwicklungsgeschichte verschiedener Plastidentypen bei *Oenothera*, die als Vorbereitung für

elektronenmikroskopische Analysen gedacht ist, wird der eine von uns (Senser) veröffentlichen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sind wir für die Unterstützung unserer Arbeiten zu großem Dank verpflichtet.

Literatur

Frey-Wyssling, A., u. E. Kreutzer: Die submikroskopische Entwicklung der Chromoplasten in den Blüten von *Ranunculus repens* L. Planta (Berl.) **51**, 104—114 (1958).

Mühlethaler, K., u. A. Frey-Wyssling: Entwicklung und Struktur der Proplastiden. J. biophys. biochem. Cytol. **6**, 507—512 (1959).

Schimper, A. F. W.: Untersuchungen über die Chlorophyllkörper und die ihnen homologen Gebilde. Jb. wiss. Bot. **16**, 1—247 (1885).

Schötz, F.: Über Plastidenkonkurrenz bei *Oenothera*. Planta (Berl.) **43**, 182—240 (1954).

— Untersuchungen an panaschierten Oenotheren I. Z. Naturforsch. **10b**, 100—108 (1955).

— Untersuchungen an den Plastiden von *Oenothera*. Ber. dtsch. bot. Ges. **74**, 215—216 (1961).

Stubbe, W.: Erbliche Chlorophylldefekte bei *Oenothera*. Photogr. u. Wissensch. **4**, 3—8 (1955).

— Dreifarbenpanaschierung bei Oenotheren. I. Ber. dtsch. bot. Ges. **70**, 221—226 (1957).

Wettstein, D. v.: The formation of plastid structures. The photochemical apparatus. Brookhaven Sympos. in Biology **11**, 138—159 (1958).

Priv.-Doz. Dr. Franz Schötz, Botanisches Institut der Universität, München 19, Menzinger Straße 67

Aufnahmebedingungen

I. Sachliche Anforderungen

Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigung bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Vorläufige Mitteilungen werden nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellungen der Tatbestände ist zulässig.

II. Formelle Anforderungen

Originalarbeiten sollen nicht umfangreicher als zwei Druckbogen (à 16 Druckseiten) sein; Kurze Mitteilungen dürfen den Umfang von vier Druckseiten nicht überschreiten.

Das Manuskript muß leicht leserlich und einseitig geschrieben sein. Die Abbildungs-Vorlagen sind auf besonderen Blättern einzureichen, ebenso die Legenden. Die Arbeiten müssen knapp und sprachlich klar geschrieben sein. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. *Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen* (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) *herzustellen.*

Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.

Für die Rechtschreibung ist die „wissenschaftliche Rechtschreibung nach JANSEN" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt.

Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenfassung der wesentlichen Ergebnisse anzufügen. Eine Übersetzung dieser Zusammenfassung in eine andere der Kongreß-Sprachen kann in Petit-Druck hinzugefügt werden, sofern beide Zusammenfassungen nicht mehr als insgesamt $1^1/_2$ Druckseiten beanspruchen.

Von jeder Versuchsart bzw. von jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text, oder wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber zu umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. Es wird empfohlen durch eine Fußnote darauf hinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen und angefordert werden kann.

Die Abbildungen sind auf das unbedingt notwendige zu beschränken. Knappe Abbildungsunterschriften erübrigen nochmalige Beschreibung im Text. Unzulässig ist die doppelte Darstellung in Tabelle *und* Kurve. Für Halbtonbilder (Photos, Mikrophotos, Halbtonzeichnungen) sind reproduktionsfähige, d.h. scharfe, gut durchgezeichnete und tonwertreiche Vorlagen (Hochglanzabzüge) einzureichen. Die Beschriftung der Abbildungen mit Buchstaben und/oder Ziffern erfolgt durch den Verlag. Die Hinweise sind auf einem über die Vorlage geklebten Deckblatt einzureichen. Für schematische Schwarzweißzeichnungen, die als Strichätzungen reproduziert werden sollen, sind saubere, klare Skizzen abzuliefern, die vom Verlag umgezeichnet werden.

Literaturangaben, die nur im Text berücksichtigte Arbeiten enthalten dürfen, erfolgen mit vollständigem Titel der Arbeit, Zeitschriftentitel (in der Abkürzung nach den World Medical Periodicals), Band-, Seiten- und Jahreszahl. Die Literaturangaben sind am Schluß der Arbeit nach den Autorennamen (jeweils mit Anfangsbuchstaben des Vornamens) *alphabetisch* anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der betreffenden Stelle im Text eine in Klammer gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturverzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem Titel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.

Die Beschreibung von Methodik, Protokollen und weniger wichtigen Teilen ist für Kleindruck vorzumerken. Autorennamen sollen (für KAPITÄLCHEN-Druck) doppelt, lateinische Namen der Objekte (für *Kursiv*-Druck) geschlängelt unterstrichen werden. In Kursiv-Druck können auch andere Worte des Textes gesetzt werden, die der Autor besonders hervorzuheben wünscht.

Das Zerlegen der Arbeit in mehrere Mitteilungen, um sie kürzer erscheinen zu lassen, ist unzulässig.

Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel nicht die gleichen sind.

Danksagungen können in Form von Fußnoten zum Beitragstitel oder als kurzer Petitabschnitt am Schluß der Arbeit gebracht werden. *Festschriften* und *Monographien* gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

In der Korrektur sollen nur Druckfehler verbessert, jedoch keine inhaltlichen oder stilistischen Änderungen vorgenommen werden. 10% der Satzkosten übersteigende Korrekturkosten müssen den Autoren in Rechnung gestellt werden.

Die Wüsten der Erde
und ihre Erforschung

Von Professor Dr. ALFONS GABRIEL, Wien

(Verständliche Wissenschaft. Naturwissenschaftliche Abteilung.
Herausgegeben von Professor Dr. KARL VON FRISCH, München.
Sechsundsiebzigster Band)

Mit 34 Abbildungen und einem Kartenanhang. VIII, 167 Seiten Kl.-8°.
Ganzleinen DM 8,80

INHALTSVERZEICHNIS

Wesen und Grenzen der Wüste · Die Entstehung der Wüsten · Kräfte und Formen in der Wüste: Die Verwitterung. Rinden, Krusten und Verkieselungen. Das Wasser. Der Wind. Staub und Sand · Die Typen der Wüste: Die Gebirgswüsten. Die Flachwüsten · Gemäßigte und strenge Wüsten. Das Wechselspiel ihrer Kräfte · Die Schrecken und die Herrlichkeiten der Wüste · Das Leben in der Wüste: Pflanzen und Tiere. Wie entstand der Mensch der Wüste? Der Mensch der Wüste. Der Verfall des Wüstennomadentums · Die Erforschung der Wüsten · Einzelne Wüsten: Sahara. Nafud und ar-Rimal. Lut. Kara-Kum und Kysyl-Kum. Die zentralasiatischen Wüsten. Das Wüstengebiet Nordamerikas. Atacama. Namib. Die australischen Trockenräume · Die Zukunft der Wüsten · Orts- und Personenverzeichnis · Sachverzeichnis · Kartenanhang.

ZUR INFORMATION

Das Bändchen soll einen Einblick in unser Wissen über das Wesen, die Verbreitung und die Ausgestaltung der schärfsten Trockenräume unserer Erde vermitteln. Darüber hinaus wird ein Abriß einer vergleichenden Geschichte der Erforschung der Wüsten seit ältesten Zeiten gegeben, und es werden die Aussichten besprochen, wie weit der Mensch imstande sein dürfte, die lebensfeindlichen Räume zu nutzen und die aus ihren klimatischen Gegebenheiten für die umgebenden Länder entstandene Drohung zu beseitigen. Es wird auch die Rolle des Menschen in der Wüste behandelt, die Art, wie die Umwelt ihn geformt hat und wie sie seinen Untergang bringt. Wenige Zweige der Geographie werden so sehr wie die Wüstenforschung von ungeklärten Fragen beherrscht, und es wurde nicht vermieden, auf viele von ihnen hinzuweisen. Ein Thema, das bisher fast ausschließlich Arbeitsgebiet der Fachgelehrten war, wird hiermit weiten Kreisen nahegebracht.

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany